

# Primjena difrakcijskih tehnika u analizi dodataka prehrani

---

Grbeša, Jelena

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:009333>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-17**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**PRIMJENA DIFRAKCIJSKIH TEHNIKA U ANALIZI DODATAKA  
PREHRANI**

**ZAVRŠNI RAD**

**JELENA GRBEŠA**

**Matični broj: 109**

**Split, srpanj 2023.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**PREDDIPLOMSKI STUDIJ**  
**PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**

**PRIMJENA DIFRAKCIJSKIH TEHNIKA U ANALIZI DODATAKA**  
**PREHRANI**

**ZAVRŠNI RAD**

**JELENA GRBEŠA**

**Matični broj: 109**

**Split, srpanj 2023.**

**UNIVERSITY OF SPLIT  
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY  
UNDERGRADUATE STUDY  
FOOD TEHNOLOGY**

**APPLICATION OF DIFFRACTION TECHNIQUES IN THE  
ANALYSIS OF FOOD SUPPLEMENTS**

**BACHELOR THESIS**

**JELENA GRBEŠA  
Parent number: 109**

**Split, July 2023**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijsko-tehnološki fakultet  
Preddiplomski studij prehrambene tehnologije

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Mentor:** prof. dr. sc. Dražan Jozić

### PRIMJENA DIFRAKCIJSKIH TEHNIKA U ANALIZI DODATAKA PREHRANI

Jelena Grbeša, 109

**Sažetak:** Dodaci prehrani obogaćuju svakodnevnu prehranu s primarnim zadatkom očuvanja zdravlja. Upravo zbog svih benefita koje pružaju ljudskom organizmu, potrebno je zadovoljiti dnevne potrebe vitamina i minerala, no nažalost to je sve teže zbog suvremenog načina života i nedostatka raznolikosti u rutinskoj prehrani ljudi. Najučestaliji dodaci koji se koriste kao nadomjestak hrani su vitamini, minerali i biljni ekstrakti. U posljednje vrijeme dostupnost različitih pripravaka od različitih proizvođača je lakša nego ikada do sada. Osim toga, prodaja ovih pripravaka je i medijski popraćena na način da se kupce stimulira na kupovinu istih kroz navođenje niza djelotvornih učinaka na zdravlje poput smanjenja apetita, povećanja mišićne mase, poboljšanja pamćenja i cirkulacije itd. Spomenuta kategorija pripravaka smatra se hranom zbog čega je zakonska regulativa manje rigorozna u usporedbi s kontrolom lijekova koji podliježu strogim ispitivanjima. Uobičajene analitičke metode koje se primjenjuju u analizi dodataka prehrani su kromatografske i spektroskopske metode. U ovom radu korištena je rendgenska difrakcijska analiza (XRD) na praškastim, polikristalnim uzorcima mineralnih dodataka prehrani u cilju utvrđivanja učinkovitosti iste u analizi dodataka prehrani.

**Ključne riječi:** dodaci prehrani, minerali, vitamini, XRD

**Rad sadrži:** 58 stranica, 40 slika, 10 tablica, 56 literaturnih reference

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu završnog rada:

- |  |             |
|--|-------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. Zvonimir Marijanović | predsjednik |
| 2. izv. prof. dr. sc. Danijela Skroza      | član        |
| 3. prof. dr.sc. Dražan Jozić               | mentor      |

#### Datum obrane:

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (PDF) obliku pohranjen** u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35, u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice u Splitu te u javnoj internetskoj bazi završnih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

### BACHELOR THESIS

**University of Split**  
**Faculty of Chemistry and Tehnology Split**  
**Undergraduate study Food Tehnology**

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Food tehcnology

**Supervisor:** Dražan Jozić, PhD, Full professor

### APPLICATION OF DIFFRACTION TECHNIQUES IN ANALYSIS OF FOOD SUPPLEMENTS

Jelena Grbeša, 109

**Abstract:** Dietary supplements enrich the daily diet with the primary task of maintaining health. Precisely because of all the benefits they provide to the human body, it is necessary to meet the daily needs of vitamins and minerals, but unfortunately this is increasingly difficult due to the modern way of life and the lack of variety in the routine diet of people. The most common supplements used as food substitutes are vitamins, minerals and plant extracts. Recently, the availability of various preparations from different manufacturers is easier than ever. In addition, the sale of these preparations is accompanied by the media in such a way as to stimulate customers to buy them by stating a number of effective effects on health, such as reducing appetite, increasing muscle mass, improving memory and circulation, etc. The mentioned category of preparations is considered as food, therefore the legal regulations are less strict than for medicinal products, which are subject to strict control. Common methods of analysis for food supplements are chromatographic and spectroscopic methods. In this work, X-ray diffraction analysis (XRD) was used on powdered, polycrystalline samples of mineral food supplements in order to determine the effectiveness of the same in supplement analysis.

**Keywords:** dietary supplements, minerals, vitamins, XRD

**Thesis contains:** 58 pages, 40 figures, 10 tables, 56 references

**Original in:** Croatian

#### Defence committee for evaluation and defense of bachelor thesis:

- |   |                      |
|---|----------------------|
| 1. Zvonimir Marijanović, PhD, Assoc. Prof.. | chair person         |
| 2. Danijela Skroza, PhD, Assoc. Prof.       | member/co-supervisor |
| 3. Dražan Jozić, PhD, Full Prof.            | supervisor           |

#### Defence date:

**Printed and electronic (PDF) form of thesis is deposited in** Library of Faculty of Chemistry and Tehnology in Split, Ruđera Boškovića 35, in the public library database of the University of Split Library and in the digital academic archives and repositories of the National and University Library.

*Završni rad je izrađen u Zavodu za anorgansku tehnologiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom prof. dr. sc. Dražana Jožića u razdoblju od veljače do srpnja 2023. godine.*

*Iskreno se zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Dražanu Joziću na vodstvu i korisnim savjetima koji su mi pomogli prilikom izrade ovog rada.*

*Veliko hvala mojoj obitelji i prijateljima na bezuvjetnoj podršci i motivaciji tijekom studiranja.*



## ZADATAK

Zadatak ovog rada je istražiti sastav odabranih prehrambenih dodataka Dietpharm tvrtke primjenom difrakcijskih tehnika u svrhu usporedbe vjerodostojnosti informacija prikazanih na deklaraciji pripravaka sa stvarnim sastavom istih. U prikupljanju difrakcijskih podataka koristiti Omega-2Theta geometriju te podatke prikupiti u širokom kutnom području. U svrhu identifikacije mineralnih vrsta prisutnih u dodacima prehrani prikupljene difrakcijske slike korigirati na sistematske pogreške te iste usporediti s podacima sadržanim u ICDD bazi podataka (eng. *International Crystallographic Diffraction Database, Release 2020*).

## SAŽETAK

Dodaci prehrani obogaćuju svakodnevnu prehranu s primarnim zadatkom očuvanja zdravlja. Upravo zbog svih benefita koje pružaju ljudskom organizmu, potrebno je zadovoljiti dnevne potrebe vitamina i minerala, no nažalost to je sve teže zbog suvremenog načina života i nedostatka raznolikosti u rutinskoj prehrani ljudi. Najučestaliji dodaci koji se koriste kao nadomjestak hrani su vitamini, minerali i biljni ekstrakti. U posljednje vrijeme dostupnost različitih pripravaka od različitih proizvođača je lakša nego ikada do sada. Osim toga, prodaja ovih pripravaka je i medijski popraćena na način da se kupce stimulira na kupovinu istih kroz navođenje niza djelotvornih učinaka na zdravlje poput smanjenja apetita, povećanja mišićne mase, poboljšanja pamćenja i cirkulacije itd. Spomenuta kategorija pripravaka smatra se hranom zbog čega je zakonska regulativa manje rigorozna u usporedbi s kontrolom lijekova koji podliježu strogim ispitivanjima. Uobičajene analitičke metode koje se primjenjuju u analizi dodataka prehrani su kromatografske i spektroskopske metode. U ovom radu korištena je rendgenska difrakcijska analiza (XRD) na praškastim, polikristalnim uzorcima mineralnih dodataka prehrani u cilju utvrđivanja učinkovitosti iste u analizi dodataka prehrani.

**Ključne riječi:** dodaci prehrani, minerali, vitamini, XRD

## **SUMMARY**

Dietary supplements enrich the daily diet with the primary task of maintaining health. Precisely because of all the benefits they provide to the human body, it is necessary to meet the daily needs of vitamins and minerals, but unfortunately this is increasingly difficult due to the modern way of life and the lack of variety in the routine diet of people. The most common supplements used as food substitutes are vitamins, minerals and plant extracts. Recently, the availability of various preparations from different manufacturers is easier than ever. In addition, the sale of these preparations is accompanied by the media in such a way as to stimulate customers to buy them by stating a number of effective effects on health, such as reducing appetite, increasing muscle mass, improving memory and circulation, etc. The mentioned category of preparations is considered as food, therefore the legal regulations are less strict than for medicinal products, which are subject to strict control. Common methods of analysis for food supplements are chromatographic and spectroscopic methods. In this work, X-ray diffraction analysis (XRD) was used on powdered, polycrystalline samples of mineral food supplements in order to determine the effectiveness of the same in supplement analysis.

**Keywords:** dietary supplements, minerals, vitamins, XRD

# SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO .....	2
1.1. Vitamini i minerali .....	2
1.1.1. Vitamini .....	2
1.1.1.1. Povijest vitamina.....	2
1.1.1.2. Podjela vitamina .....	3
1.1.1.3. Funkcionalnost vitamina.....	3
1.1.2. Minerali .....	5
1.1.2.1. Povijest minerala.....	5
1.1.2.2. Podjela minerala .....	6
1.1.2.3. Funkcionalnost minerala.....	6
1.2. Potrebe za dodacima prehrani .....	8
1.3. Zakonska regulativa dodataka prehrani .....	10
1.4. Proizvodnja dodataka prehrani.....	12
1.5. Metode karakterizacije dodataka prehrani .....	14
1.5.1. Kromatografija .....	15
1.5.1.1. Tekućinska kromatografija .....	15
1.5.1.2. Plinska kromatografija.....	17
1.5.2. Rendgenska difrakcijska analiza .....	18
2. EKSPERIMENTALNI DIO .....	23
2.1. Materijali .....	23
2.2. Priprema uzorka .....	24
2.3. Difrakcija X-zraka na praškastim uzrocima.....	26
3. REZULTATI I RASPRAVA .....	28

3.1.	Uklanjanje sistematskih pogreški iz mjernih podataka.....	28
3.2.	Obrada difrakcijske slike.....	32
3.3.	Minerološka analiza difrakcijskih slika .....	34
3.3.1.	Baze podataka koje se koriste u identifikaciji strukturno uređenih tvari prisutnih u difrakcijskim slikama .....	34
3.4.	Primjena difrakcijskih tehnika i metoda u analizi dodataka prehrani .....	41
4.	ZAKLJUČAK.....	52
5.	POPIS KRATICA.....	53
6.	LITERATURA .....	54

## UVOD

Dodatke prehrani definira odredba 2. članka Direktive 2002/46/EZ Europskog parlamenta i Vijeća o usklađivanju zakona država članica u odnosu na dodatke prehrani od 10. lipnja 2002. godine (dalje u tekstu: Direktiva 2002/46/EZ) kao „hranu čija je svrha dopuniti uobičajenu prehranu, a koja predstavlja koncentrirane izvore hranjivih tvari ili druge tvari prehranbenog ili fiziološkog učinka, pojedinačne ili u kombinaciji, na tržištu u doziranom obliku, to jest u oblicima kao što su kapsule, pastile, tablete, pilule i slično, vrećice praha, ampule tekućine, bočice na kapaljku te ostali slični oblici tekućine i praha namijenjeni za uzimanje u odmjerenim malim količinama.”<sup>1</sup> U hranjive tvari svrstavaju se vitamini i minerali, dok se pod pojmom drugih tvari podrazumijevaju: aminokiseline, esencijalne masne kiseline, vlakna, organi i ekstrakti biljnih vrsta, mikroorganizmi, jestive gljive, alge, pčelinji proizvodi i dr.<sup>2</sup>

Dodaci prehrani imaju primarni zadatak očuvati zdravlje ljudi. Uslijed suvremenog načina života i nedostatka raznolikosti u rutinskoj ishrani ljudi, danas se dodaci prehrani sve više koriste. Upravo zbog toga na tržištu su dostupni razni proizvođači dodataka prehrani. Budući da se spomenuta kategorija pripravaka smatra hranom prema zakonskim regulativama podliježe manje strogim ispitivanjima u odnosu na lijekove.<sup>3</sup>

# 1. OPĆI DIO

## 1.1. Vitamini i minerali

Pod pojmom hrane obuhvaća se veliki broj nutrijenata koji u ljudskom organizmu obavljaju svojstvene metaboličke procese. Nutrijente dijelimo na makronutrijente i mikronutrijente. Masti, proteini i ugljikohidrati svrstavaju se u makronutrijente koje je potrebno unositi u većim količinama jer se njihovom razgradnjom organizam opskrbljuje energijom. Vitamini i minerali pripadaju skupini mikronutrijenata koji su potrebni u relativno malim količinama u usporedbi sa makronutrijentima. Konzumiramo ih zbog njihovog specifičnog djelovanja u regulaciji metabolizma koje će biti pojašnjeno u daljnjem tekstu rada.<sup>4</sup>

### 1.1.1. Vitamini

Vitamini su organski spojevi koji u malim količinama imaju značajnu ulogu u prehrani pojedinca. Njihova prisutnost u hrani esencijalna je za razvoj i održavanje zdravlja organizma. Iako nisu nositelji energije, organizmi se bez njih ne mogu pravilno razvijati, a posebice obavljati sve fiziološke funkcije.<sup>5</sup>

Sisavci ih ne mogu sintetizirati, izuzev vitamina D i K, stoga je unos hranom od ključne važnosti.<sup>6</sup> Endogena sinteza vitamina D započinje prilikom kontakta kože sa suncem, to jest ultraljubičastim (UV) B zračenjem valne duljine 290-320 nm.<sup>7</sup> Djelovanjem crijevne mikroflore u debelom crijevu se stvara vitamin K.<sup>8</sup>

#### 1.1.1.1. Povijest vitamina

Obzirom da su se tijekom 19. stoljeća glavnim uzročnicima bolesti smatrale bakterije i bakterijski toksini, unutar medicinskih krugova nije bila prihvaćena činjenica da su neke bolesti vezane uz prehranu, stoga je otkriće vitamina veliki znanstveni uspjeh koji doprinosi razumijevanju zdravlja i bolesti.<sup>4</sup>

Christiaan Eijkman zapazio je razvitak polineuritisa, upale koja istodobno pogađa veći broj perifernih živaca i analog je ljudskom beri-beriju. Primijetio je razvoj bolesti kod kokoši koja je hranjena rižom očišćenom od ljuski te je 1893. godine uspio eksperimentalno proizvesti bolest kod ptica. Netočno je pretpostavio da škrob nosi toksin u poliranoj riži, dok ga ljuske eliminiraju. Njegova istraživanja nastavio je Gerrit

Grijns koji je uočio da je beri-beri uzrokovan deficitom egzistencijalne supstance u prehrani.<sup>9</sup>

Naziv „vitamin“ (lat. *vita*, život) uveo je biokemičar Kazimir Funk 1912. godine kada je uspio izolirati nepoznatu tvar iz smeđe riže. Funk je tu komponentu smatrao vitalno važnom te zbog postojanja amino skupine nazvao ju je vitaminom, dok ju danas nazivamo tiamin ili vitamin B<sub>1</sub>.<sup>6</sup>

### **1.1.1.2. Podjela vitamina**

Prema metaboličkim putovima u organizmu razlikujemo dvije skupine vitamina: vitamini topljivi u vodi i oni topljivi u mastima. Vitamin C i vitamini B kompleksa ubrajaju se u grupu vitamina topljivih u vodi. U vitamine B kompleksa svrstavamo: vitamin B<sub>1</sub> (tiamin), vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin), vitamin B<sub>3</sub> (niacin), vitamin B<sub>5</sub> (pantotenska kiselina), vitamin B<sub>6</sub> (piridoksin), vitamin B<sub>7</sub> (biotin), vitamin B<sub>9</sub> (folat) i vitamin B<sub>12</sub> (kobalamin). Vitamini A, D, E i K pripadaju u kategoriju vitamina topljivih u mastima.<sup>10</sup> Apsorpcija, transport, skladištenje i izlučivanje vitamina ovise o njihovoj topljivosti.<sup>4</sup>

Vitamini topljivi u mastima se apsorbiraju u tankom crijevu na način da se implementiraju u micelle i zajedno s njima ujedineju u hilomikrone te tako putuju limfom i ne ulaze direktno u krvotok. Vitamini topljivi u vodi se također apsorbiraju u tankom crijevu, međutim prenose se pomoću transportnih proteina koji su karakteristični za određeni vitamin.<sup>10</sup>

Bubrezi uklanjaju višak vitamina topljivih u vodi, a vitamini topljivi u mastima su skloni nakupljanju u tijelu. Tako se dolazi do zaključka da će vitamini topljivi u mastima imati negativne učinke ako se uzimaju u prekomjernim količinama dok je kod vitamina topljivih u vodi važan kontinuirani unos budući da se ne skladište lako.<sup>4</sup>

### **1.1.1.3. Funkcionalnost vitamina**

Iako su vitamini i minerali potrebni u malim koncentracijama dnevno za očuvanje balansa u ljudskom tijelu, njihov klinički značaj u održavanju homeostaze organizma je veoma važan jer posjeduju zaštitne i regulacijske funkcije, stimuliraju rast i razvoj, pružaju podršku kognitivnim funkcijama i obavezni su za optimalnu funkcionalnost imunološkog sustava.<sup>10</sup>



Vitamini se općenito pretvaraju u složenije molekule koje djeluju kao koenzimi, to jest komponente koje u pojedinim reakcijama djeluju kao katalizatori.<sup>11</sup> Hranom se mogu unijeti svi mikronutrijenti, stoga se preporuča konzumiranje namirnica koje obiluju njihovim sadržajem poput agruma, raznovrsnih biljaka iz porodice mahunarki, žitarica, mesa i mliječnih proizvoda.<sup>10</sup> Postupci potrebni za pretvorbu sirove robe u pakiranu hranu uvijek uzrokuju gubitak vitamina i minerala, stoga bi prerađenu hranu trebalo nastojati izbjegavati ili ju upotrebljavati u manjoj mjeri te se fokusirati na veći unos svježih namirnica.<sup>12</sup> Tablica 1. prikazuje izvore pojedinog vitamina te njegove primarne funkcije u organizmu.

**Tablica 1.** Prikaz funkcija i prirodnih izvora vitamina<sup>10, 12</sup>

VITAMIN	FUNKCIJA <sup>10,12</sup>	IZVORI <sup>12</sup>
Tiamin	Važan za aktivnost četiri ključna enzima u staničnom metabolizmu: piruvat dehidrogenaze, $\alpha$ -ketoglutaratdehidrogenaze, transketolaze i enzimatskog kompleksa $\alpha$ -ketodehidrogenaze	Grah, grašak, cjelovite žitarice, orašasti plodovi, svinjetina
Riboflavin	Antioksidativan efekt, učinak protiv starenja, protuupalno djelovanje	Jaja, meso, perad, mlijeko, gljive, plodovi mora, špinat
Niacin	Povećava udio kolesterola visoke gustoće („dobar“ kolesterol), a smanjuje udio kolesterola niske gustoće („loš“ kolesterol)	Grah, govedina, svinjetina, perad, plodovi mora, cjelovite žitarice
Pantotenska kiselina	Kao sastavnica koenzima A ima ulogu u oslobađanju energije iz masti i ugljikohidrata, stvaranje crvenih krvnih stanica, prijenos signala u stanici	Avokado, grah, grašak, jaja, mlijeko, gljive, perad, plodovi mora, slatki krumpir, cjelovite žitarice
Piridoksin	Funkcija živčanog sustava (koenzim u sintezi neuroprijenosnika), stvaranje crvenih krvnih stanica	Slanutak, voće, krumpir, losos
Biotin	Metabolizam hranjivih tvari (podržava proizvodnju aminokiselina i masnih kiselina, sudjeluje u pretvorbi hrane u glukozu), održavanje normalne funkcije živčanog sustava	Avokado, cvjetača, voće, jaja, mlijeko, svinjetina, losos, cjelovite žitarice
Folat	Neophodan za sintezu nukleinskih kiselina,	Avokado, šparoge, grah i

	uključen u reakcije pretvorbe aminokiselina i oksidacijske reakcije	grašak, zeleno lisnato povrće, sok od naranče
Kobalamin	Sazrijevanje crvenih krvnih stanica	Mliječni proizvodi, jaja, meso, perad, plodovi mora
Vitamin C	Antioksidacijsko sredstvo, kolagenska i vezivna funkcija, imunološka funkcija	Brokula, prokulica, dinja, voće i voćni sokovi, paprika
Vitamin A	Normalna funkcija organa vida, rast i diferencijacija tkiva, pravilnost rada imunološkog i reproduktivnog sustava	Dinja, mrkva, mliječni proizvodi, jaja, zeleno lisnato povrće, bundeva, slatki krumpir
Vitamin D	Održavanje zdravlja kostiju i mišića, apsorpcija kalcija i fosfata	Jaja, riba, mliječni proizvodi
Vitamin E	Snažan antioksidans, potiče obrambene sposobnosti organizma	Zeleno lisnato povrće, orašasti plodovi i sjemenke, kikiriki, maslinovo ulje
Vitamin K	Zgrušavanje krvi, čvrstoća kostiju	Zeleno lisnato povrće

### 1.1.2. Minerali

Minerali su anorganske čvrste tvari koje nastaju geološkim procesima, a definiraju se na temelju kemijskog sastava i kristalne strukture.<sup>13</sup> Ljudski organizam ih ne može proizvoditi, stoga se moraju unositi vodom ili hranom.<sup>14</sup>

Tlo predstavlja izvor minerala. Selektivnom apsorpcijom iz tla, biljke ih hranidbenim lancem prenose ljudima. Važno ih je unositi u adekvatnim količinama jer su nužni za biokemijske reakcije i fiziološke potrebe organizma. Također se dodaju hrani radi ostvarivanja željenih funkcija. Na primjer, hrana poprima slan okus dodatkom natrijevog klorida koji još ima ulogu konzerviranja hrane suzbijanjem rasta mikroorganizama.<sup>12</sup>

#### 1.1.2.1. Povijest minerala

Od otkrića prvih minerala, zlata i bakra, u periodu između 6000. i 3500. godine prije Krista pa sve do konca 17. stoljeća, bilo je pronađeno samo 13 minerala. Sedam je metala bilo poznato kao metali antike na kojima se temeljila civilizacija. Prvi otkriveni su zlato, bakar, srebro i olovo, dok su između 1750. i 750. godine prije Krista otkriveni željezo, kositar i živa. U 13. i 14. stoljeću otkrivena su četiri minerala: cink,

arsen, bizmut i antimon. Platina je pronađena u 16. stoljeću, a iz urina je izoliran fosfor 1696. godine.<sup>15</sup>

Krajem 18. stoljeća odvijale su se studije o analizi kostiju. Ustanovljeno je da kosti sadrže kalcijev fosfat, a Stephan Hales je došao do zaključka da se mineralni sastav kostiju neprestano mijenja. Potvrđeno je da se rahitis može spriječiti i izliječiti unosom kalcija, fosfora i vitamina D. Vincenzo Antonio Menghini je 1747. godine zamijetio prisutnost željeza u krvi i te je to saznanje uvelike pridonijelo liječenju anemije. Godine 1824. Alexander Humboldt je utvrdio da se konzumiranjem jodirane soli prevenira gušavost. Liječenje brojnih teških bolesti kojima se nije poznavao uzrok, omogućeno je postupnim otkrićem minerala. Iz navedenih primjera uočavamo da su neophodni za normalno funkcioniranje organizma.<sup>15</sup>

#### **1.1.2.2. Podjela minerala**

Minerali se prema dnevnim potrebama dijele u dvije glavne skupine: makrominerali (glavni minerali) i mikrominerali (minerali u tragovima). Makrominerali uključuju: magnezij (Mg), kalij (K), kalcij (Ca), natrij (Na), fosfor (P), klor (Cl) i sumpor (S) te ih je potrebno unositi u količini većoj od 100 mg na dan, dok je potreba za mikromineralima znatno niža i iznosi manje od 100 mg dnevno. U tu kategoriju ubrajamo željezo (Fe), cink (Zn), jod (I), krom (Cr), bakar (Cu), fluor (F), mangan (Mn) i silicij (Si). Posebnu skupinu mikromineralna čine kemijski elementi za koje je potrebno manje od 50 ng dnevno za zadovoljavanje potreba organizma, a to su selen (Se), kositar (Sn), brom (Br), olovo (Pb), bor (B), litij (Li), kadmij (Cd), nikal (Ni), vanadij (V), molibden (Mo) i arsen (As).<sup>14</sup> Nazivi minerala uglavnom potječu iz grčkog i latinskog jezika.<sup>16</sup>

#### **1.1.2.3. Funkcionalnost minerala**

Učinkovitost minerala očituje se u nizu metaboličkih reakcija i pri sintezi molekula poput masti i bjelančevina. Većina minerala djeluje kao kofaktor za niz enzima.<sup>11</sup> Kofaktor je neproteinska komponenta neophodna za normalnu katalitičku aktivnost enzima.<sup>17</sup> Tablica 2. daje uvid u izvore minerala te njihove funkcije u organizmu.

**Tablica 2.** Prikaz funkcija i prirodnih izvora minerala<sup>12</sup>

MINERAL	FUNKCIJA	IZVOR
Kalcij	Zgrušavanje krvi, formiranje kostiju i zubi, lučenje hormona, kontrakcija mišića, rad živčanog sustava	Mliječni proizvodi, bademovo i kokosovo mlijeko, zeleno lisnato povrće
Magnezij	Regulacija krvnog tlaka i razine šećera, formiranje kostiju, jačanje imunološkog i živčanog sustava	Avokado, banane, grah, grašak, mliječni proizvodi, orasi, krumpir, grožđice, cjelovite žitarice
Natrij	Održavanje acidobazne ravnoteže, regulacija krvnog tlaka, kontrakcija mišića	Kruh, sir, prerađeno meso, juhe, kuhinjska sol
Klor	Održavanje acidobazne ravnoteže, funkcija živčanog sustava	Celer, zelena salata, masline, kuhinjska sol, rajčica
Kalij	Zgrušavanje krvi, čvrstoća kostiju	Zeleno lisnato povrće, cvjetna pelud
Fosfor	Održavanje acidobazne ravnoteže, čvrstoća kostiju, lučenje hormona	Grah, grašak, mliječni proizvodi, meso, perad, plodovi mora, cjelovite žitarice
Krom	Pojačava djelovanje inzulina, a posljedično tome potiče unos glukoze u stanice	Brokula, voće, banane, meso, češnjak, bosiljak, cjelovite žitarice
Bakar	Antioksidans, stvaranje vezivnog tkiva kolagena, metabolizam željeza	Kakao, školjke, leća, cjelovite žitarice
Fluor	Čvrstoća kostiju i zubi	Riba (sardine), perad
Jod	Rad štitnjače	Morski plodovi i morske alge, obogaćena kuhinjska sol
Željezo	Prijenos kisika iz pluća u krvotok, stvaranje crvenih krvnih stanica	Grah, grašak, tamno zeleno povrće, meso, perad, suhe šljive, plodovi mora, cjelovite žitarice
Mangan	Regulacija iskorištavanja šećera za dobitak energije, stvaranje hrskavice i kostiju	Grah, orasi, ananas, špinat, slatki krumpir, cjelovite žitarice
Selen	Antioksidans, regulacija staničnog ciklusa, funkcija rada štitnjače	Jaja, meso, orasi, perad, plodovi mora, cjelovite žitarice
Cink	Potiče rast i razvoj, jača imunološki sustav, reducira taloženje teških metala u tijelu	Grah, grašak, govedina, mliječni proizvodi, orasi, perad, plodovi mora, cjelovite žitarice

## 1.2. Potrebe za dodacima prehrani

Raznovrsnom prehranom zasigurno se mogu osigurati dovoljne količine svih makronutrijenata i mikronutrijenata, no nedostatan unos vitamina i minerala je značajan javnozdravstveni problem današnjice. Primarna prepreka u održavanju izbalansirane prehrane je ubrzan stil života koji je popraćen učestalom konzumacijom „brze hrane“, *instant* obroka te konzervirane hrane bogate aditivima. Ako se uz nekvalitetnu prehranu vodi sjedilački način života ili podliježe pušenju i upotrebi alkohola, očekivano je da će razina mikronutrijenata u organizmu biti nedovoljna te da je potrebno posegnuti za nadomjeskom istih.<sup>10</sup>

Deficit odgovarajućeg mikronutrijenta uzrokuje specifična oboljenja. Anemija je uzrokovana pomanjkanjem bakra i željeza, dok nedostatak cinka rezultira čirevima na koži i pogoršanjem imuniteta. Poremećaj u radu štitne žlijezde uzrokuje snižena količina joda, nastanak zubnog karijesa je usko povezan sa manjkom fluora, a inzulinska rezistencija posljedica je nedostatka kroma. Smanjene razine cinka i selena kod kritično bolesnih pacijenata sa sindromom sustavnog upalnog odgovora i sepsom povezane su s povećanom smrtnošću. Postoje dokazi da dodaci prehrani koji sadrže cink i selen mogu sniziti stopu infekcija i poboljšati oporavak kod odabranih pacijenata.<sup>11</sup>

Nedovoljan unos vitamina A dovodi do noćnog sljepila, dok je rahitis prouzročen manjkom vitamina D. Na degeneraciju živaca i mišića utječe snižen unos vitamina E, a oslabljena koagulacija krvi posljedica je manjka vitamina K. Skorbut nastaje zbog nedostatka vitamina C, a beri-beri zbog nedostatka tiamina. Deficit dvaju vitamina, riboflavina i biotina, dovodi do stanja dermatitisa. Pelagra je potaknuta niskim unosom niacina.<sup>4</sup> Manjak pantotenske kiseline je jako rijedak jer je široko rasprostranjen u hrani, a neki od simptoma su: umor, glavobolja, pogoršana koordinacija, grčevi u mišićima i razdražljivost.<sup>18</sup> Ozbiljan nedostatak piridoksina nije uobičajen, ali se češće javlja s nedostatkom drugih vitamina B kompleksa. Konjuktivitis, loš zadah, rane u kutovima usana te ljuskave usne su pojave pomoću kojih se može zaključiti da tijelu nedostaje vitamina B<sub>6</sub>.<sup>19</sup> Anemija se veže za smanjen unos folata i kobalamina.<sup>4</sup>

Navedene konstatacije pokazuju do kakvih stanja može dovesti manjak određenog vitamina i minerala, njihova važnost za zdravlje je neupitna, stoga da bi organizam nesmetano izvršavao sve svoje funkcije potrebno ih je unositi u dostatnoj

količini. Preporučeni dnevni unos (eng. *Recommended Dietary Allowance*, RDA) je definiran kao dnevna razina unosa dovoljna da zadovolji potrebe za hranjivim tvarima gotovo svih (97%) zdravih pojedinaca prema spolu i dobi.<sup>12</sup> Općenito, potražnja organizma za esencijalnim tvarima utvrđena je kao najmanja količina tvari koja je potrebna za održavanje zadovoljavajuće tjelesne mase, morfologije, kemijskog sastava i fiziološke funkcije organizma te da obustavi pojavljivanje kliničkih znakova nedostatka tih tvari.<sup>4</sup> U tablici 3. prikazani su preporučeni dnevni unosi vitamina i minerala za odrasle osobe.

**Tablica 3.** Preporučeni dnevni unos vitamina i minerala (odrasli)<sup>20</sup>

Vitamin A (µg)	800	Kalij (mg)	2000
Vitamin D (µg)	5	Klor (mg)	800
Vitamin E (mg)	12	Kalcij (mg)	800
Vitamin K (µg)	75	Fosfor (mg)	700
Vitamin C (mg)	80	Magnezij (mg)	375
Tiamin (mg)	1,1	Željezo (mg)	14
Riboflavin (mg)	1,4	Cink (mg)	10
Niacin (mg)	16	Bakar (mg)	1
Pantotenska kiselina (mg)	6	Mangan (mg)	2
Piridoksin (mg)	1,4	Fluor (mg)	3,5
Biotin (µg)	50	Selen (µg)	55
Folna kiselina (µg)	200	Krom (µg)	40
Kobalamin (µg)	2,5	Molibden (µg)	50
		Jod (µg)	150

Zbog različitih navika i načina života, genetskih čimbenika te obzirom na spol i dob, potrebe za vitaminima i mineralima u ljudskoj populaciji se razlikuju.<sup>4</sup> Povišenu potražnju za dodatnim unosom zahtijevaju: pušači, alkoholičari, vegetarijanci ili vegani, tinejdžeri s lošim prehranbenim navikama, odrasli s niskim kalorijskim unosom, starija skupina ljudi, dijabetičari, žene u periodu menopauze, trudnoće i laktacije i dr.<sup>21</sup>

Preporučljivo je voditi računa o gornjoj podnošljivoj razini unosa (eng. *Tolerable Upper Intake Level*, UL) koja predstavlja najviši prosječni dnevni unos hranjivih tvari koji vjerojatno neće predstavljati rizik od štetnih učinaka za gotovo sve pojedince u općoj populaciji.<sup>12</sup>

Narušeno zdravlje je posljedica prekoračenja te granice. Neki minerali u prevelikim koncentracijama imaju toksičan učinak, poput željeza koje uzrokuje hemokromatozu koja predstavlja oštećenje tkiva pri nakupljanju željeza, dok višak bakra potiče neurološka oštećenja. Prekomjerne doze vitamina topljivih u mastima također imaju negativne efekte. Prevelik unos vitamina K rezultirati će gastrointestinalnim smetnjama, vitamin A će izazvati razvoj osjećaja razdražljivosti, a vitamin D zatajenje bubrega i kalcifikaciju mekih tkiva.<sup>11</sup>

### **1.3. Zakonska regulativa dodataka prehrani**

Globalna prodaja dodataka prehrani bilježi brzi rast, ali zbog općeg nedostatka predanosti donošenju učinkovite regulative (npr. izostanak jamstava o učinkovitosti i sigurnosti, nepostojanje dokumentacije o čistoći ili stabilnosti korištenih tvari, itd.) na trenutnom tržištu moguća je pojava patvorenih proizvoda. Kvaliteta i pouzdanost su upitni obzirom na lakoću njihovog stupanja na tržište.<sup>22</sup>

U različitim državama svijeta postoje drugačija pravila za plasiranje dodataka prehrani na tržište. Ovlašteno tijelo u Sjedinjenim Američkim Državama je Američka agencija za hranu i lijekove (eng. *Food and Drug Administration*, FDA). Prije proizvodnje ili prodaje dodataka prehrani proizvođači ne moraju dobiti dozvolu od FDA. Prije stavljanja na tržište proizvođači dodataka prehrani nisu primorani potvrditi sigurnost i učinkovitost proizvoda, već se mjere zakonske regulative vrše tek kada proizvod dospije na tržište.<sup>23</sup>

Unutar Europske unije dodaci prehrani se reguliraju poput hrane i imaju ulogu u održavanju zdravlja, dok se lijekovi upotrebljavaju u cilju liječenja bolesti. Istodobno, dodaci prehrani lakše dopijevaju na tržište jer ne prolaze kompleksan i restriktivan postupak odobravanja kao lijekovi. Dodaci prehrani testiraju se na zdravstvenu i sanitarnu ispravnost, ali ne i na djelotvornost, sigurnost i farmaceutsku kvalitetu kao što to zahtijevaju lijekovi.

Dodaci prehrani podliježu propisima o hrani, a ista pravila vrijede za opće označavanje, prehrambene aditive, kontaminante, novu hranu, prehrambene i zdravstvene tvrdnje o hrani itd. U Republici Hrvatskoj sastav, označavanje i stavljanje na tržište uređeni su Zakonom o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama te hrani obogaćenoj nutrijentima, Pravilnikom o dodacima prehrani, Pravilnikom o uvjetima za uvršavanje u program monitoringa i provedbu programa monitoringa dodataka prehrani

i Pravilnikom o tvarima koje se mogu dodavati hrani i koristiti u proizvodnji hrane te tvarima čije je korištenje u hrani zabranjeno ili ograničeno. Pravilnikom o dodacima prehrani koriste se odredbe Direktive 2002/46/EZ u cilju usuglašavanja zakona država članica. Uredbom Komisije (EZ) Europskog parlamenta i Vijeća su propisani svi vitamini i minerali te njihovi kemijski oblici koji se smiju koristiti prilikom proizvodnje dodataka prehrani.<sup>24</sup>

Pravilnik o tvarima koje se mogu dodavati hrani i koristiti u proizvodnji hrane te tvarima čije je korištenje u hrani zabranjeno ili ograničeno (NN 160/2013) propisuje uvjete pod kojima se tvari, uključujući biljne vrste, mogu dodavati hrani i koristiti u njezinoj proizvodnji, kao i najveće dopuštene količine vitamina i minerala koje se smiju dodavati prilikom stavljanja hrane i dodataka prehrani na tržište u Republici Hrvatskoj te biljne vrste koje nisu dopuštene u hrani i dodacima prehrani. Najveće dopuštene količine vitamina i minerala koje se mogu dodavati hrani i dodacima prehrani, a namijenjeni su odraslim osobama, nalaze se u Prilogu I. koji je sastavni dio ovog Pravilnika, a prikazan je u tablici 4.<sup>25</sup>

**Tablica 4.** Najveće dopuštene količine vitamina i minerala u hrani i dodacima prehrani<sup>25</sup>

	Dodaci prehrani*	Hrana**		Dodaci prehrani*	Hrana**
VITAMINI			MINERALI		
Vitamin A (µg)	1500	800	Kalij (mg)	2000	2000
Vitamin D (µg)	10	5	Klor (mg)	800	800
Vitamin E (mg)	200	12	Kalcij (mg)	1500	800
Vitamin K (µg)	100	75	Fosfor (mg)	1400	700
Vitamin C (mg)	800	160	Magnezij (mg)	375	375
Tiamin (mg)	25	3,3	Željezo (mg)	30	14
Riboflavin (mg)	25	4,2	Cink (mg)	15	10
Niacin (mg) ***	35	35	Bakar (mg)	3	1
Pantotenska kiselina (mg)	18	18	Mangan (mg)	4	2
Piridoksin (mg)	20	4,2	Fluor (mg)	10	3,5
Biotin (µg)	150	150	Selen (µg)	100	55
Folna kiselina (µg)	600	200	Krom (µg)	150	40
Kobalamin (µg)	25	7,5	Molibden (µg)	100	50
			Jod (µg)	225	150

\* u najvećoj dopuštenoj dnevnoj dozi

\*\* odnosi se na količinu namijenjenu konzumaciji kao jedan obrok

\*\*\* najveća dopuštena doza se odnosi na kemijski oblik vitamina B<sub>3</sub> (nikotinamid), dok je najveća dopuštena dnevna doza nikotinske kiseline 10 mg



Ukoliko proizvođač želi lansirati na tržište dodatke prehrani koji sadrže izvor hranjivih tvari koje nisu na popisu dopuštenih tvari Direktive 2002/46/EZ, mora podnijeti zahtjev za odobrenje Europskoj komisiji. Tada Europska agencija za sigurnost hrane (eng. *European Food Safety Authority*, EFSA) priprema znanstveno mišljenje na osnovu kojeg će Europska komisija ocijeniti zahtjev za odobrenje. Što se tiče regulacije postavljanja dodataka prehrani na tržište, Europska unija ima strože mjere u odnosu na SAD.<sup>23</sup>

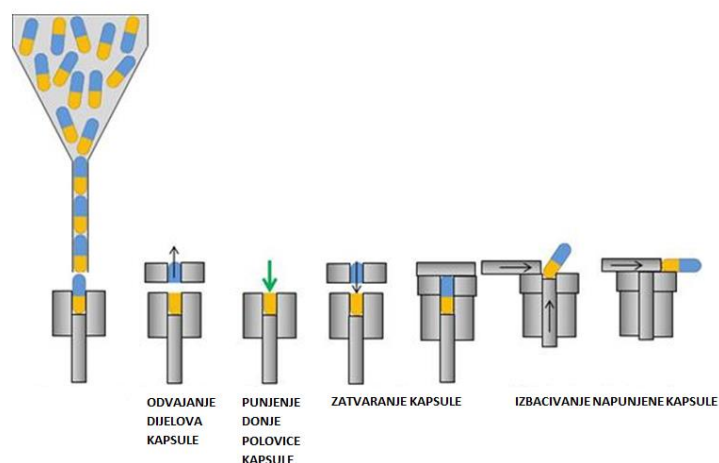
#### **1.4. Proizvodnja dodataka prehrani**

Kod proizvodnje dodataka prehrani na bazi vitamina i minerala nužna je kvalitetna oprema koje uključuje odgovarajuće mjerne instrumente za vaganje te opremu i strojeve za miješanje, granulaciju, kapsuliranje, tabletiranje i pakiranje. Dostupnost i vrsta sirovina je iznimno važna radi odabira tehnologija. Vitamini se, osim izoliranjem iz biljnih i životinjskih izvora, dobivaju u laboratorijima sintetskom proizvodnjom. Razlika u kemijskoj strukturi između sintetskih vitamina i onih proizvedenih iz prirodnih izvora ne postoji, stoga se u dodacima prehrani češće koriste sintetski vitamini obzirom na njihovu lakšu i jednostavniju proizvodnju. Primjerice, ulje riblje jetre je izvrstan prirodni izvor vitamina A, ali se isti može sintetizirati iz acetona (najjednostavniji keton, karakteriziran karbonilnom skupinom, C=O, koja je povezana s dvije metilne skupine).<sup>26</sup> Vitamini se također mogu proizvoditi biosintezom pomoću mikroorganizama. Biotehnoška proizvodnja vitamina je proces koji crpi najmanje energije i ima najniže troškove zbrinjavanja otpada. Biotehnoškom proizvodnjom mogu se istovremeno proizvoditi velike količine vitamina C, vitamina E i β-karotena uz pomoć slatkovodne mikroalge *Euglena gracilis* Z., dok se vitamine B kompleksa dobivaju iz mnogobrojnih vrsta bakterija i kvasaca (kobalamin se dobiva isključivo postupkom fermentacije).<sup>27</sup>

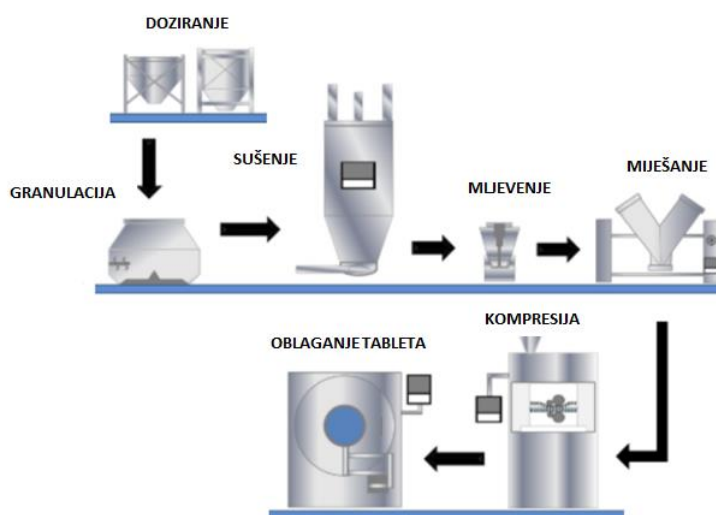
Na tržištu je česta kombinacija vitaminskih spojeva sa mineralima ili raznolikim biljnim vrstama te se one dodaju tijekom procesa proizvodnje. Nakon odabira aktivnih komponenti koje su uglavnom zastupljene u niskim koncentracijama u gotovom proizvodu, potrebno je izabrati aditive koji u velikoj mjeri pomažu u postupku proizvodnje. Kako bi kapsula ili tableta dobila odgovarajuću masu, u preparat se unosi niz punila poput malto-dekstrina, mikrokristalne celuloze i laktoze. Ukoliko je pripravak namijenjen djeci dodaju se arome kako bi proizvod bio što ukusniji. Kao

sredstvo za tečenje koristi se silicijev dioksid, dok magnezijev stearat ima ulogu lubrikanta te pomaže da prah prolazi glatko kroz strojeve.

Tijekom proizvodnje važno je da svi sastojci smjese budu adekvatno usitnjeni, homogenizirani, osušeni u komorama za sušenje te trebaju poprimiti glatku formu koja će nesmetano prolaziti kroz daljnje uređaje. Postupak proizvodnje smjese je isti, a ovisno o tome želimo li dobiti kapsule ili tablete, smjesa se prenosi u stroj za kapsuliranje ili u stroj za tabletiranje. Prilikom postupka kapsuliranja stroj kapsule dijeli na dvije polovice. Donje polovice odlaze u posudu za doziranje, a stroj odmjerava točno određenu količinu smjese u svaku otvorenu donju polovicu kapsule. Smjesa se uz pomoć igli za nabijanje potiskuje prema dolje, nakon čega se gornje polovice sjedine s donjim polovicama i dobijemo zatvorenu napunjenu kapsulu. Zatim kapsule odlaze u stroj za poliranje gdje se mekim četkicama uklanjaju nečistoće sa vanjske strane kapsula. Inspekcija je korak koji prethodi pakiranju, a služi za uklanjanje kapsula koje imaju defekte. Postupak tabletiranja započinje ubacivanjem smjese u spremnik za doziranje. Nakon provedbe postupaka usitnjavanja materijala, smjesa se transportira do stanice za punjenje, a odatle do rotirajućeg stola koji na vanjskom rubu sadrži matrice u obliku željene tablete (okrugle, ovalne, itd.). Iz punionice dolazi smjesa koja napuni matricu, stol se zarotira i napunjena matrica odlazi u prešu za bušenje. Prilikom spajanja gornje i donje polovice preše, na smjesi se vrši veliki pritisak i smjesa se pretvara u kompaktnu tabletu. Tablete potom odlaze na vibrirajuću traku gdje se ukloni sva prašina zaostala na njihovoj površini. Zatim se tablete trebaju obložiti. Ukoliko se tableta obloži pH osjetljivom ovojnicom otpornom na kiselinu u želucu, tablete će se otopiti tek u crijevu. Obloga može prekriti neugodan okus i olakšati gutanje tablete. Oblaganje se vrši pomoću pumpi koje prskaju premaz preko tableta. Tablete se pakiraju nakon što se premaz osuši. Pakiranje je posljednja radnja u procesu proizvodnje, a provodi se kroz nekoliko koraka koje obavljaju strojevi. Proces pakiranja podrazumijeva stavljanje tableta ili kapsula u odgovarajuću ambalažu, zatvaranje i označavanje te ambalaže.<sup>26</sup> Shematski prikazi postupaka kapsuliranja i tabletiranja prilikom proizvodnje dodataka prehrani nalaze se na slikama 1. i 2.



**Slika 1.** Shematski prikaz postupka kapsuliranja<sup>28</sup>



**Slika 2.** Shematski prikaz postupka tabletiranja<sup>29</sup>

Dodaci prehrani su kategorija prehrambenih i zdravstvenih proizvoda i uključuju formulacije bez recepta. Kapsule i tablete su najčešći oblici u kojima se proizvode dodaci prehrani, no postoje i druge varijante poput prašaka, tekućina, gumenih bombona, energetskih pločica itd. Proizvođači koriste razna bojila, sladila te oblike pripravka kako bi ga učinila što atraktivnijim kupcima.<sup>30</sup>

### 1.5. Metode karakterizacije dodataka prehrani

Zbog očuvanja povjerenja potrošača obzirom na mogućnost pojave patvorenih proizvoda, u upotrebi su brojne analitičke metode koje služe za identifikaciju i određivanje njihovog sastava kako bi se dokazala kvaliteta i sigurnost takvih

pripravaka. Ispitivanja se provode pomoću raznih analitičkih metoda kao što su ekstrakcija, kromatografija uz korištenje raznih detektora, primjena masene spektrometrije ili kombinacija većeg broja detekcijskih metoda. Ekstrakcija je metoda pomoću koje izdvajamo bioaktivnu tvar iz uzorka na temelju selektivnog odjeljivanja između dvije faze koje se ne miješaju. Najčešće su u primjeni tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti, plinska kromatografija, fluidna kromatografija pri superkričnim uvjetima te elektroforeza. Testiranje dodataka prehrani također možemo provesti pomoću tehnike difrakcije X-zraka kojom u kratkom vremenskom periodu dobivamo uvid u mineraloški sastav i strukturnu informaciju željenog pripravka, zatim nuklearna magnetska rezonancija, infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom, spektrometrija masa induktivno spregnute plazme te tankoslojna kromatografija visokih performansi.<sup>22,31</sup>

### **1.5.1. Kromatografija**

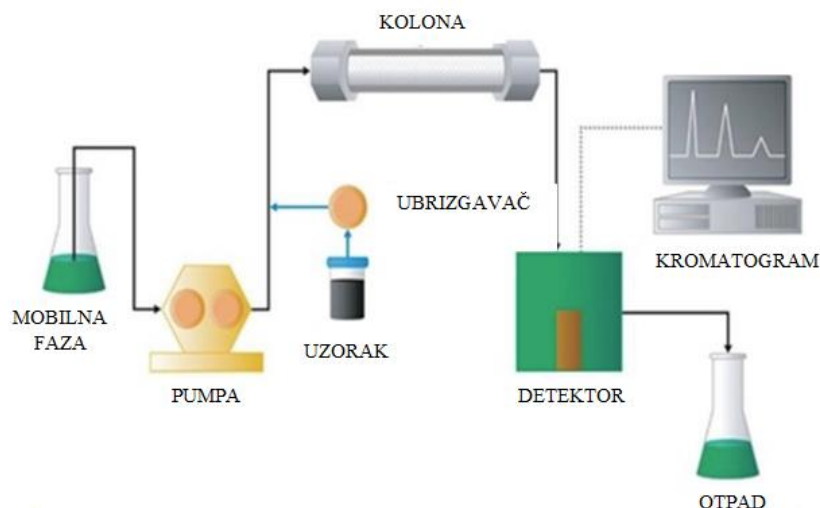
Općenito, kromatografija je separacijska metoda koja se zbog svoje jednostavnosti, učinkovitosti i praktičnosti upotrebljava u analizi raznoraznih uzoraka. Svaka kromatografska metoda uključuje mobilnu i stacionarnu fazu gdje mobilna faza prolazi kroz stacionarnu fazu ili prelazi preko njene površine. Brzina kojom svaka komponenta prolazi kroz stacionarnu fazu zajedno s mobilnom fazom utječe na razdvajanje komponenti smjese. Prema izvedbi, kromatografske tehnike dijele se na plošnu kromatografiju i kromatografiju na stupcu. Kod plošne kromatografije stacionarna faza nanosi se na ravnu plohu, dok se uska cijev ispunjava stacionarnom fazom kod kromatografije na stupcu.<sup>32</sup> Tankoslojna kromatografija, elektrokromatografija i papirna kromatografija su vrste plošne kromatografije, dok u kromatografiju na stupcu ubrajamo tekućinsku, plinsku i kromatografiju sa superkričnim fluidom.<sup>24</sup>

#### **1.5.1.1. Tekućinska kromatografija**

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. *High-Performance Liquid Chromatography*, HPLC) često se koristi jer je klasična tekućinska kromatografija relativno spor proces i uglavnom se ne upotrebljava u analitičke svrhe. Kod HPLC metode osigurava se brži protok tvari, a mobilna faza propušta se pod visokim ulaznim tlakom.<sup>32</sup> Mobilna faza (pokretna faza) je zapravo smjesa otopljenih tvari zbog toga što

je sastavljena od tekućine u kojoj je uzorak otopljen.<sup>24</sup> Stacionarna faza (nepokretna faza) koja je najčešće u upotrebi je anorganski materijal silikagel te se analiza vrši odvajanjem određenog analita na kromatografskoj koloni i detektiranjem pomoću prikladne tehnike.<sup>23</sup>

Tekućinski kromatogram je uređaj s kojim se provodi HPLC metoda. Pumpa, ubrizgivač (injektor), kolona i detektor su osnovni dijelovi koji čine uređaj. U rezervoaru se nalazi mobilna faza koja se pomoću pumpe koja generira dovoljno visok tlak prenosi u kolonu. Funkcija injektora je unos uzorka u tok struje pokretne faze. Na temelju različitih kemijskih i fizikalnih parametara, kolona odvaja komponente smjese. Detektor je posljednji dio HPLC uređaja koji se koristi za utvrđivanje identiteta i određivanje analita. U obliku električnog vala detektor prosljeđuje računalu podatke te se formira kromatogram.<sup>33</sup> Slika 3. prikazuje dijelove uređaja pomoću kojeg se provodi HPLC.



**Slika 3.** Shema tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti<sup>34</sup>

U primjeni je HPLC sa raznovrsnim detektorima, a to su UV detektor, maseni detektor, foto-diodni detektor, detektor fluorescentnih zraka i detektor električne vodljivosti.<sup>24</sup>

HPLC spregnut sa masenom spektrometrijom (eng. *High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*, HPLC-MS) je analitička kemijska metoda koja spaja sposobnost fizičkog odvajanja tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti sa

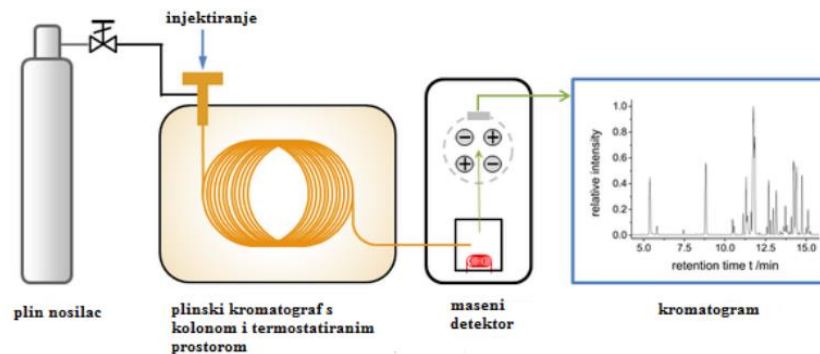
pogodnostima masene spektrometrije koja obavlja analizu molekula na osnovu omjera molekularnih masa i naboja ( $m/z$ ).<sup>34</sup> Ionizator, analizator i detektor su glavni dijelovi masenog spektrometra. Ioniziranje molekula u ionizatoru je početna faza u analizi. Nastali ioni se u analizatoru odvajaju prema odnosu  $m/z$ , a razdvojeni ioni se identificiraju pomoću detektora.<sup>23</sup> Kao rezultat analize imamo kromatogram sa specifičnim pikovima. Retencijsko vrijeme označava se na apcisi, dok se na ordinati prikazuje intenzitet signala razmjern koncentraciji odgovarajuće tvari. Retencijsko vrijeme je period koji prođe od ubrizgavanja do eluiranja uzorka, to jest ispiranja adsorbiranog uzorka sa stacionarne faze. Spektrometar masa identificira svaku komponentu zasebno te se stvara grafički prikaz tijekom svakog skeniranja. Intenzitet signala prikazuje se na ordinati, a omjer  $m/z$  za svaku detektiranu komponentu na apcisi. Maseni spektar za svaku tvar je jedinstven poput „otiska prsta“ pa se koristi za utvrđivanje identiteta.<sup>32</sup>

#### **1.5.1.2. Plinska kromatografija**

Za razliku od HPLC koja služi za separaciju otopljenih tvari, plinskom kromatografijom (eng. *Gas Chromatography*, GC) odvajaju se hlapljive komponente uzorka u plinovitoj fazi. Obzirom da stacionarna faza može biti tekuća ili čvrsta, razlikuje se plinsko-tekućinska te plinsko-čvrsta kromatografija. Mobilnu fazu predstavlja kemijski inertan plin poput dušika, helija i argona.<sup>32</sup> Kao i kod tekućinske kromatografije, u plinskoj kromatografiji možemo posegnuti za korištenjem raznovrsnih detektora. Najviše korišteni su maseni detektor, detektor toplinske vodljivosti i plameno-ionizacijski detektor.<sup>24</sup>

Plinska kromatografija s masenom spektrometrijom (eng. *Gas chromatography mass spectrometry*, GC-MS) je analitička metoda kojom se u spregu stavljaju dvije tehnike čime se pojedinačna učinkovitost povećava i omogućava se istovremeno kvalitativno i kvantitativno analiziranje uzorka. Plinski kromatograf je uređaj koji se sastoji od spremnika plina nosača, regulatora tlaka, regulatora protoka, ubrizgavača, kolone, kolonske peći te detektora. Uvjet za analizu plinskim kromatografom je taj da se uzorak treba dovesti u stanje pri radnoj temperaturi uređaja koja iznosi do 400 °C. Na početku kolone ubrizgava se uzorak te ovisno o afinitetu pojedinih komponenti uzorka za nepokretnu fazu, dolazi do njihovog odjeljivanja i u drugačijim vremenskim periodima one stižu do detektora koji ih detektira i šalje signal računalu. Veća

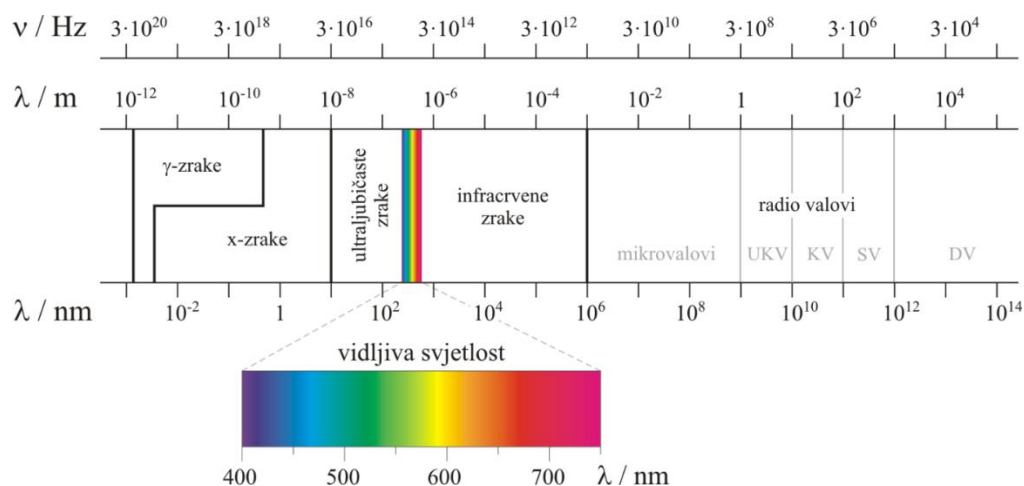
koncentracija komponente uzrokuje pojavu većeg signala. Kao kod HPLC-MS metode, rezultat analize prikazuje se kromatogramom. Glavni nedostatak GC-MS metode je nemogućnost analize spojeva osjetljivih na povišenu temperaturu.<sup>35</sup> Slika 4. daje uvid u shematski prikaz uređaja za plinsku kromatografiju s masenim spektrometrom.



**Slika 4.** Uređaj za plinsku kromatografiju s masenim spektrometrom<sup>35</sup>

### 1.5.2. Rendgenska difrakcijska analiza

Rendgensko zračenje je oblik elektromagnetskog zračenja vrlo malih valnih duljina, ali visokih energija i frekvencija. Zbog velike energije koje posjeduju, rendgenske zrake ioniziraju atom na način da iz ljuske atoma mogu izbaciti elektrone. Rendgenske zrake imaju valnu duljinu dužu od valne duljine spektra gama zraka, no kraću valnu duljinu od valne duljine zraka ultraljubičastog zračenja. Raspon valnih duljina rendgenskog zračenja kreće se između vrijednosti od 0,01 do 10 nm. Valna duljina je reda veličine udaljenosti između atoma u kristalu, zbog čega kristalni uzorak djeluje poput optičke rešetke za rendgensko zračenje.<sup>36</sup> Slika 5. prikazuje spektar elektromagnetskog zračenja.

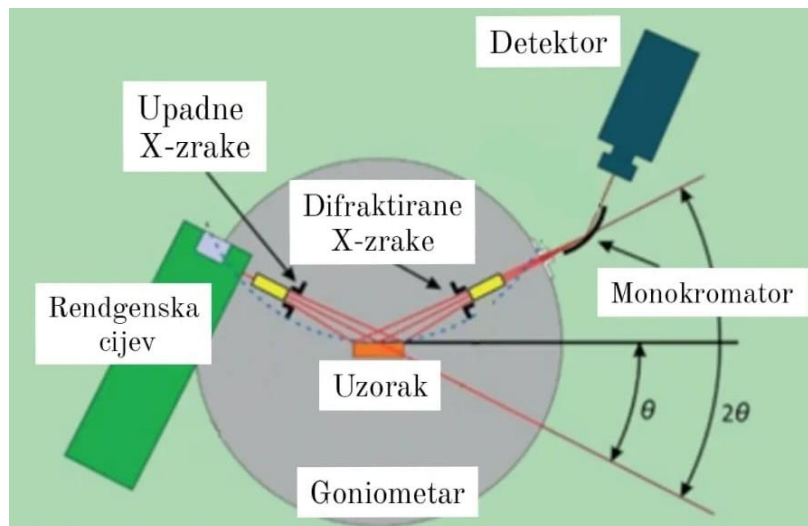


**Slika 5.** Prikaz spektra elektromagnetskog zračenja s odgovarajućim valnim duljinama<sup>37</sup>

Rendgenska difrakcijska analiza (eng. *X-ray diffraction analysis*, XRD) je brza i nedestruktivna analitička metoda kojom se dobiva uvid u strukturu materijala.<sup>31</sup> Zbog iznimne točnosti i osjetljivosti ova se metoda primjenjuje u mnogim poljima. Ima važnu ulogu u analizi većine krutih tvari, uključujući lijekove i dodatke prehrani. Kao nerazorna tehnika koristi se prilikom utvrđivanja identiteta nepoznatih spojeva, određivanja fizikalno-kemijskih svojstava i otkrivanja nečistoća u medicinskim pripravcima. Općenito, rendgenska difrakcijska analiza može se uspješno primijeniti za analizu bilo koje tvari koja posjeduje pravilno strukturalno uređenje.<sup>38</sup>

Uređaj pomoću kojeg se provodi mjerenje difrakcije naziva se rendgenski difraktometar. Glavni elementi uređaja su: su izvor rendgenskih zraka (rendgenska cijev), goniometar, monokromator, detektor i uzorak.<sup>31</sup> Slika 6. prikazuje jednu od geometrija koje se koriste tijekom snimanja difrakcijskih slika s naznačenim pojedinim dijelovima difraktometra. Na prikazu na lijevoj strani nalazi se izvor zračenja (rendgenska cijev) na koju se montira optika koja služi za reguliranje dimenzije i oblika zračenja koje dolazi na sam uzorak u tijeku mjerenja. Ova strana goniometra naziva se i primarna ili Omega ( $\omega$ ) strana goniometra, a na suprotnoj strani nalazi se detektor kojim se mjeri intenzitet nastale interakcije između upadnog snopa i tvari od koje je izgrađen uzorak. Pozicija uzorka je uvijek u fokusu goniometra za vrijeme provedbe eksperimenta. Desna strana goniometra na kojoj je detektor naziva se i sekundarna strana goniometra ili  $2\theta$ .





**Slika 6.** Shematski prikaz difraktometra<sup>39</sup>

Za vrijeme provedbe mjerenja metodom difrakcije X-zraka na polikristalnim uzorcima upadne X-zrake interagiraju s elektronima sadržanim u atomima koji čine uzorak. U toj interakciji elektroni sadržani u atomima koherentno raspršuju X-zračenje, odnosno emitiraju zračenje iste valne duljine i energije kao što je i upadni snop te postaju sekundarni izvor zračenja koji emitira novi val koji se širi u svim pravcima. Da bi došlo do pojave difrakcije elektromagnetskog zračenja mora biti osiguran osnovni preduvjet da je materijal koji se analizira strukturno uređen, što znači da ima pravilnu unutarnju građu drugog reda.<sup>40</sup> Kada zrake rendgenskog zračenja dođu u interakciju s uzorkom, moguće interakcije između sekundarno produciranog zračenja koje potječe od atoma sadržanih u uzorku mogu biti konstruktivne i destruktivne. U eksperimentu to znači da u određenim smjerovima dolazi do pojave intenziteta zračenja (konstruktivna interferencija) i u drugom slučaju dolazi do pogašenja zračenja (destruktivna interferencija). Razlog i opis ove pojave moguće je objasniti Braggovim zakonom, a jednačba koja ga opisuje je sljedeća:

$$n\lambda = 2d\sin\theta$$

gdje je:

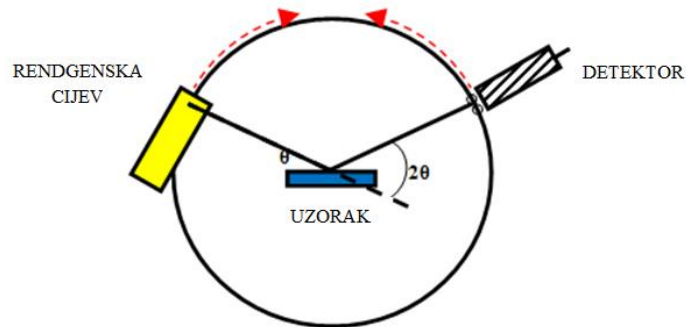
$n$  – cijeli broj

$\lambda$  – valna duljina upadne rendgenske zrake

$d$  – udaljenost između atomskih ravnina

$\theta$  – kut raspršenja (Braggov kut)

Upadne rendgenske zrake dolaze na kristalnu ravninu pod kutem  $\theta$  (upadni kut) i difraktiraju se pod kutem  $\theta$  (kut difrakcije). U odnosu na okomicu kristalne rešetke kut  $\theta$  je simetričan.<sup>41</sup> Slika 7. prikazuje Omega-2theta geometriju.



**Slika 7.** Omega-2Theta geometrija<sup>42</sup>

Naime, konstruktivna interferencija događa se u strukturno uređenim sustavima te isti potječu s ravnina sadržanih u strukturi materijala koji se ispituje. Ove ravnine u kristalografiji se nazivaju kristalografske ravnine i označavaju se Mullerovim indeksima. Kristalografske ravnine sadrže na točnim pozicijama raspoređene atome, a jedna od druge su na točnim međuplošnim udaljenostima koje se označavaju s  $d$ . Dakle, kristalografske ravnine označavaju su Millerovim indeksima ( $hkl$ ) i iste su ekvidistantne (npr.  $d_{hkl}$ ). Ukoliko je razlika u geometrijskom hodu valnih duljina cijeli broj, doći će do konstruktivne interferencije raspršenih zraka, to jest rezultanta interakcije je povećanje intenziteta. Do destruktivne interferencije dolazi kada mrežne ravnine nisu ekvidistantne, stoga razlika u hodu varira i nema cjelobrojan iznos.<sup>43</sup>

Detektor služi za skupljanje signala te kao rezultat provedene analize imamo difrakcijsku sliku koju još zovemo i difraktogram. Difraktogram prikazuje ovisnost intenziteta difraktiranog zračenja o difrakcijskom kutu.<sup>38</sup> Ukoliko je zadovoljen Braggov uvjet na difraktogramu dolazi do pojave difrakcijskog maksimuma koji predstavlja zaobljenu liniju oblika zvona. Nesavršenost kristala ili instrumenta uzrokovati će proširenje difrakcijskog maksimuma. Na difraktometru možemo iščitati sljedeće podatke: intenzitet i položaj pika te širinu na pola intenziteta. Svaka kristalna tvar ima karakterističan uzorak difrakcije X-zraka s određenim položajima difrakcijskih linija i njihovim intenzitetom. Pomoću baze podataka i primjenom računala možemo pretražiti koji od spojeva ima difrakcijski maksimum na odgovarajućoj poziciji te

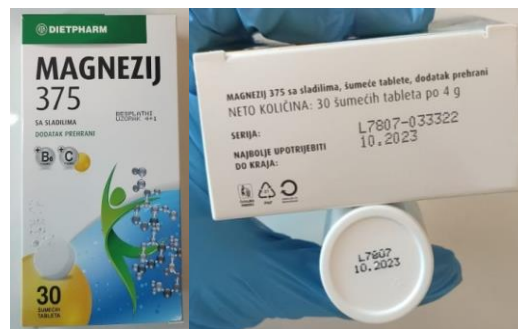
usporedbom difraktograma analiziranog uzorka i baze podataka možemo potvrditi identitet spoja.<sup>41</sup>

## 2. EKSPERIMENTALNI DIO

Cilj rada bio je ispitati mineraloški sastav dodataka prehrani primjenjujući rendgensku difrakcijsku metodu analize.

### 2.1. Materijali

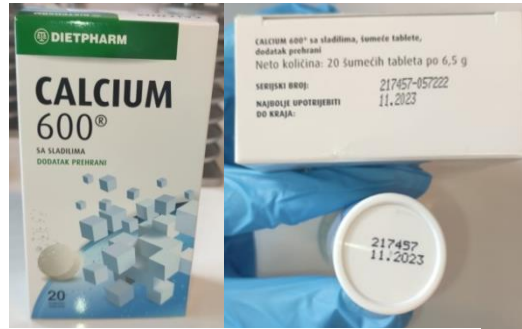
Istraživanje u ovom radu izvršeno je na 5 uzoraka dodataka prehrani na bazi minerala i vitamina. Svi uzorci proizvedeni su od strane istog proizvođača Dietpharm. Korišteni uzorci su: Magnezij citrat 375, Magnezij 375, Calcium 600, Kalcij + C i Kalcij citrat + D. Pripravci sadrže kiselinu (uglavnom limunsku kiselinu), regulatore kiselosti, tvari za sprječavanje zgrudnjavanja, tvari za povećanje volumena, arome, sladila te bojila. Slike u nastavku prikazuju korištene uzorke te njihove LOT brojeve.



**Slika 8.** Uzorak Magnezij 375



**Slika 9.** Uzorak Magnezij citrat 375



**Slika 10.** Uzorak Calcium 600



**Slika 11.** Uzorak Kalcij + C



**Slika 12.** Kalcij citrat + D

## 2.2. Priprema uzorka

Postupak pripreme uzorka od velike je važnosti za dobivanje pouzdanih eksperimentalnih rezultata. Kako bi se dobili visokokvalitetni rezultati analize potrebno je usitniti uzorak. Za provedbu rendgenske difrakcije na praškastim materijalima dobro samljeveni uzorak mora imati veličinu čestica od najviše 44  $\mu\text{m}$ . Identifikacija faza, procjena količine i kristalnosti uzorka biti će pogrešna ukoliko se uzorak ne pripremi na

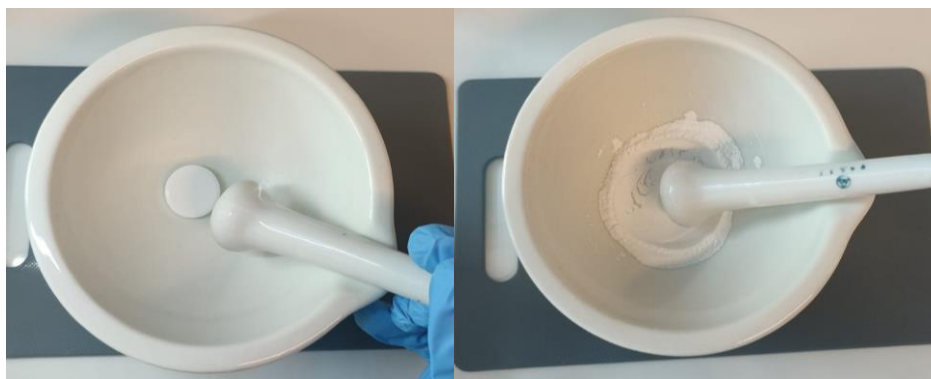
adekvatan način. Može doći do toga da neki manji vrhovi difrakcijskih maksimuma nisu dovoljno dobro izraženi i stapaju se sa pozadinskim šumom. Ako se mogu vidjeti ili osjetiti pojedinačna zrnca u uzorku, potrebno je nastaviti s mljevenjem.<sup>44</sup>

Priprema uzorka odvija se u prostoru bez prašine i koristi se čisti, prethodno dezinficirani pribor kako bi se spriječila kontaminacija uzorka. Aparatura potrebna za usitnjavanje tablete dodatka prehrani je slijedeća: podložak za rad, tarionik s tučkom, metalna špatula, kist, satno stakalce te dijelovi držača uzorka. Potreban pribor za rad vidljiv je na slici 13.



**Slika 13.** Pribor potreban za usitnjavanje uzorka

Od tablete potrebno je dobiti fino samljeveni prah. Primjenom blagog pritiska zdrobimo tabletu te miješamo dok čestice ne postanu odgovarajuće veličine. Slike 14. prikazuje izgled ispitivanog materijala (tableta Magnezij 375 dodatka prehrani) prije i poslije usitnjavanja.



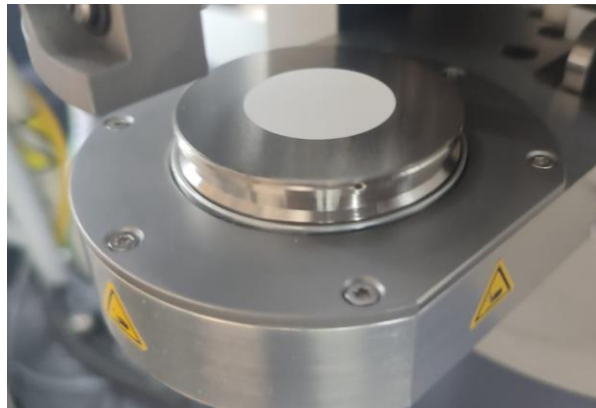
**Slika 14.** Uzorak Magnezij 375 prije usitnjavanja a) i nakon usitnjavanja b).

Nakon usitnjavanja uzorka, potrebno ga je postaviti u odgovarajući držač. Na glavni blok postavlja se gornji dio držača uzorka s ravnom stranom prema dolje te se fiksira u centru. Uzorak se unosi pomoću metalne špatule. Predmetno stakalce koristi se za poravnanje površine i uklanjanje viška uzorka. Potom se čvrstim i ravnomjernim

pritisak pomoću bloka za stiskanje vrši pritisak na ispitivani materijal. Ukoliko se primijeti da nedostaje uzorka, postupak se ponavlja sve dok udubina namijenjena za punjenje uzorka ne bude potpuno ispunjena. Ostatke uzorka koji su zaostali na držaču uklanjamo kistom. Slijedi postavljanje donjeg dijela držača s licem prema dolje. Zatim se okrene cijeli blok i pritisne gumb za otpuštanje. Dobiven je uzorak koji ima finu, glatku i ravnu površinu.<sup>44</sup> Slika 15. prikazuje glavni blok na kojeg je postavljen gornji dio držača uzorka te donji dio držača koji će se postaviti nakon što se unese uzorak, dok slika 16. predstavlja izgled gotovog uzorka koji je spreman za analizu.



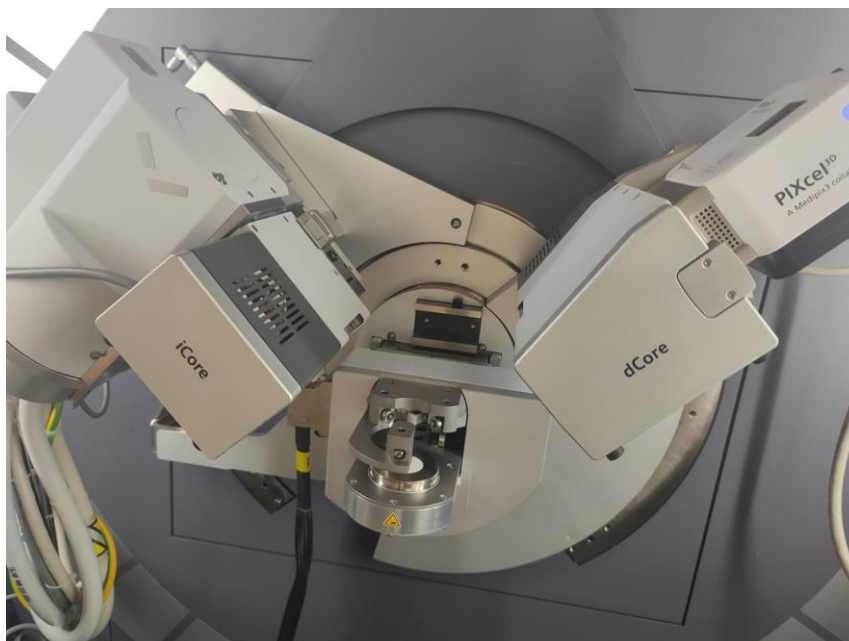
**Slika 15.** Prikaz donjeg i gornjeg držača uzorka za XRD analizu



**Slika 16.** Izgled gotovog uzorka spremnog za XRD analizu

### **2.3. Difrakcija X-zraka na praškastim uzorcima**

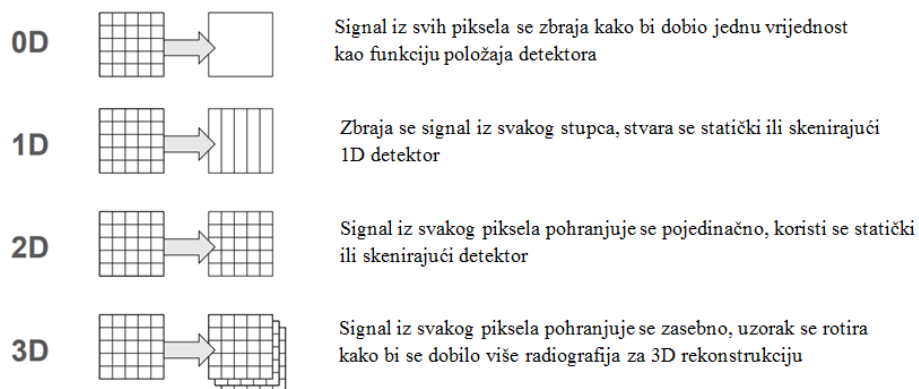
Rendgenska difrakcijska analiza na uzorcima dodataka prehrani izvršena je na uređaju Malvern Panalytical Empyrean prikazanom na slici 17. Na primarnoj strani goniometra korišten je prefiks iCore, a na sekundarnoj strani upotrijebljen je dCore uz detektor PIXcel3D s Medipix3. Prilikom analize korišten je program HighScore Plus i ICDD PDF2 kristalografska baza podataka.



**Slika 17.** Malvern Panalytical Empyrean uređaj

Postoji više modova rada detektora koji se koriste u XRD analizi, a to su: 0D, 1D, 2D i 3D detektori. Prilikom izvođenja ovog eksperimenta korišten je 1D detektor.<sup>45</sup>

Slika 18. ilustrira rad s različitim modovima detektora.



**Slika 18.** Modovi rada 0D, 1D, 2D, i 3D detektora<sup>45</sup>

Detektor ima veličinu senzora 14 mm x 14 mm ili 256 x 256 piksela (dimenzija piksela je 55  $\mu\text{m}$  x 55  $\mu\text{m}$ ). Tijekom rada detektor može primiti zračenje u maksimalnoj ekspoziciji X-zraka u iznosu od  $120 \times 10^6$  cps (counts per second) po svakom stupcu, a sveukupnu brzinu brojanja (count rate) od  $30 \times 10^9$  cps. Najmanja veličina koraka tijekom provedbe mjerenja iznosi  $0,0016^\circ$   $2\theta$  na radijusu goniometra od 240 mm.<sup>45,46</sup>

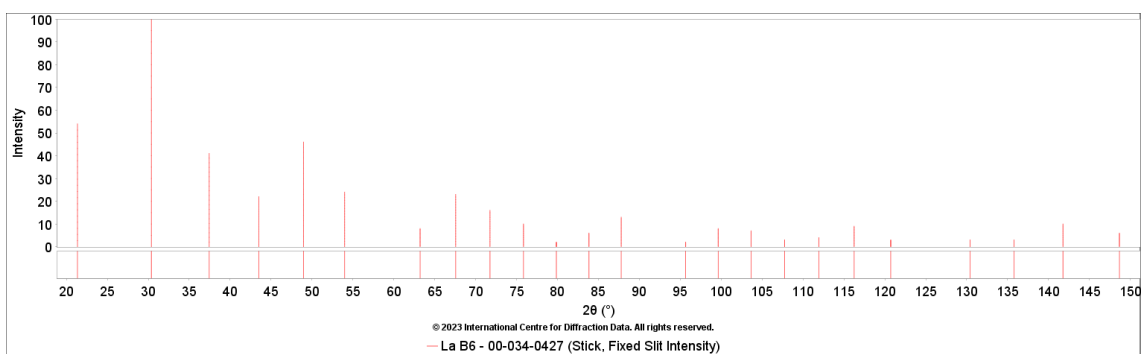


### 3. REZULTATI I RASPRAVA

#### 3.1. Uklanjanje sistematskih pogreški iz mjernih podatka

Kao što je opisano u eksperimentalnom dijelu, difrakcijske slike na polikristalnim uzorcima snimljeni su na Malvern Panalytical Empyrean modelu višenamjenskog difraktometra uz korištenje nosača uzorka Reflection transmission spinner 3.0. Snimak je načinjen na svim uzorcima u kutnom području od  $4^\circ$  do  $90^\circ$   $2\theta$ . Zbog instrumentalne nesavršenosti mjerni podaci uvijek sadrže i određene pogreške. Pogreške koje se mogu ukloniti iz mjernih podataka su sistematske pogreške koje potječu od geometrije samog uređaja, od korištene optike, pozicije nosača uzorka itd. A kao rezultat nastaje pogreška koja je pri toj geometriji za sve uzorke predvidiva i konstantna u cijelom području mjerenja. Upravo zbog navedenog koriste se standardi koji omogućavaju provedbu navedene korekcije. Standardi koji se najčešće koriste su  $\text{LaB}_6$  i Si.

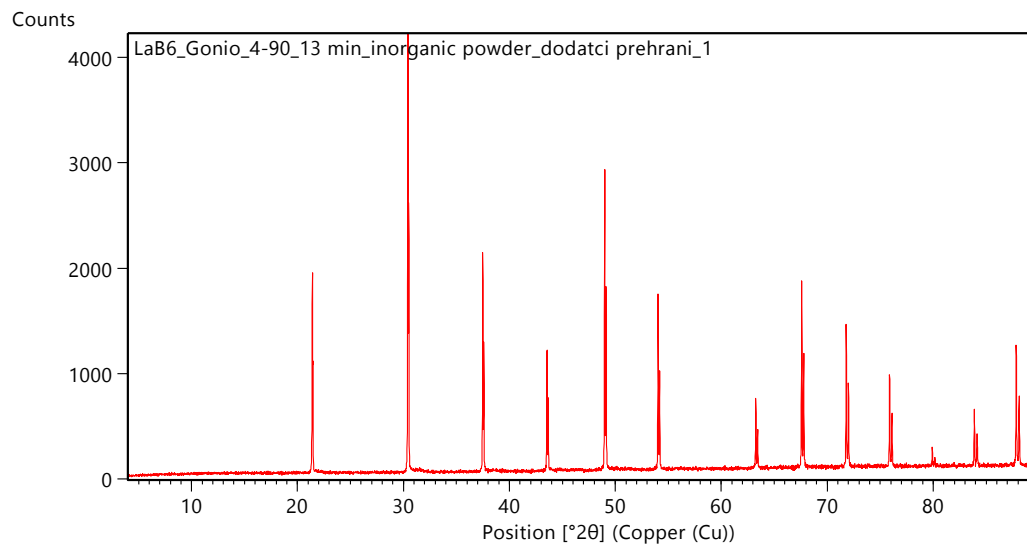
U bazi ICDD pod referentnom PDF karticom 00-034-0427 nalaze se spremljeni podaci o  $\text{LaB}_6$  kao standardu, koji sadrže sve kristalografske podatke o navedenom spoju. Na slici 19. prikazana je difrakcijska slika  $\text{LaB}_6$  standarda koji je snimljen na uređaju pri istim eksperimentalnim uvjetima kao što su snimljeni i ispitivani uzorci dodatka prehrani. U tablici 5. prikazani su podaci o poziciji difrakcijskih maksimuma, njihovom intenzitetu kao i Millerovim indeksima (hkl) za svaki od difrakcijskih maksimuma.



Slika 19. Difrakcijska slika  $\text{LaB}_6$

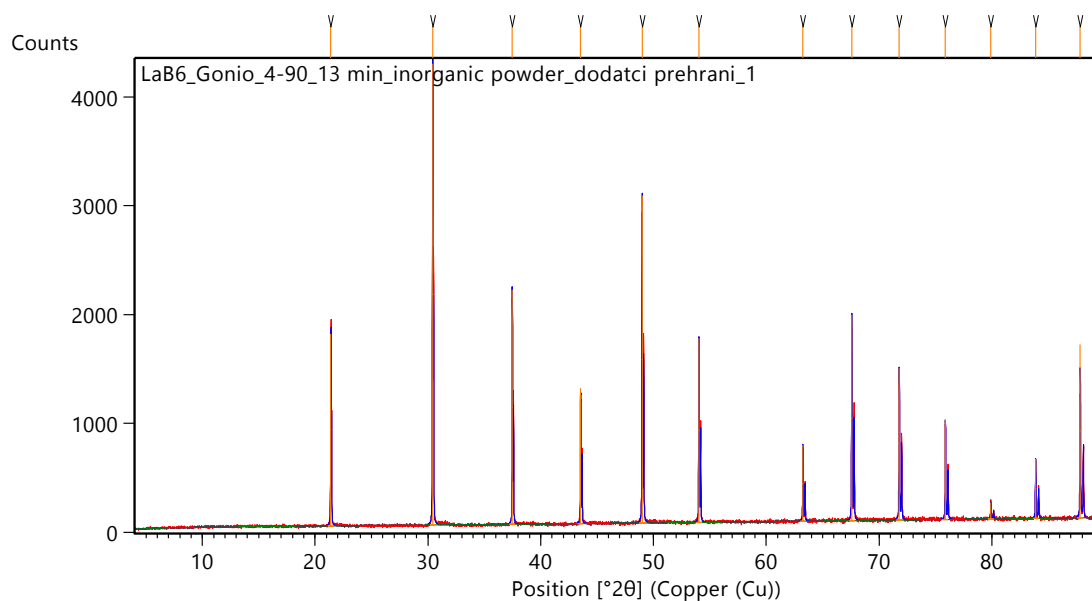
**Tablica 5.** Pozicije difrakcijskih maksimuma za LaB<sub>6</sub> referentni PDF kod 00-034-0427

2θ (°)	d (Å)	I	h	k	l	*	2θ (°)	d (Å)	I	h	k	l	*	2θ (°)	d (Å)	I	h	k	l	*
21.353	<b>4.157660</b>	54	1	0	0		71.755	1.314350	16	3	1	0		107.751	0.953625	3	3	3	1	
30.386	<b>2.939180</b>	100	1	1	0		75.847	1.253290	10	3	1	1		111.936	0.929477	4	4	2	0	
37.444	2.399800	41	1	1	1		79.866	1.200010	2	2	2	2		116.245	0.907086	9	4	2	1	
43.516	2.077980	22	2	0	0		83.847	1.152880	6	3	2	0		120.720	0.886245	3	3	3	2	
48.968	<b>1.858620</b>	46	2	1	0		87.790	1.110970	13	3	2	1		130.410	0.848500	3	4	2	2	
53.994	1.696870	24	2	1	1		95.662	1.039280	2	4	0	0		135.787	0.831399	3	5	0	0	
63.216	1.469700	8	2	2	0		99.636	1.008220	8	4	1	0		141.765	0.815242	10	5	1	0	
67.562	1.385340	23	3	0	0		103.652	0.979826	7	4	1	1		148.660	0.800014	6	5	1	1	



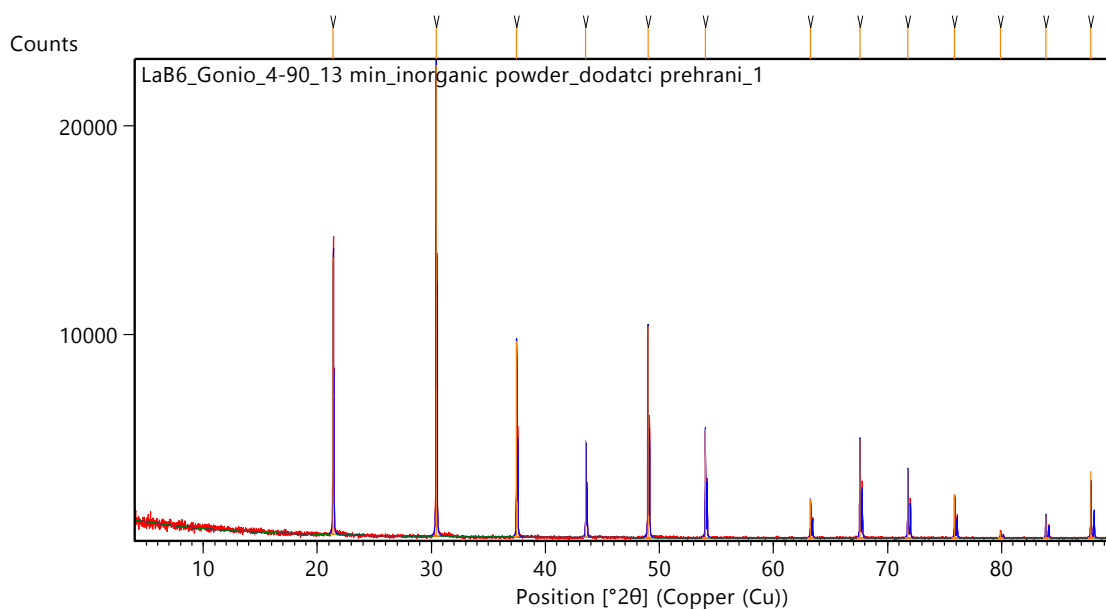
**Slika 20.** Difrakcijska slika uzorka LaB<sub>6</sub> snimljena u ADS modu

U postupku pripreme eksperimentalnih podataka na istima je potrebno izvršiti pripremu prema uobičajenom postupku koji uključuje određivanje pozadinskog zračenja, tzv. Background ili kraće Bckg, odrediti pozicije difrakcijskih maksimuma te po potrebi napraviti korekciju za divergentni slit (što ovisi o načinu prikupljanja podataka) te sistematsku korekciju.



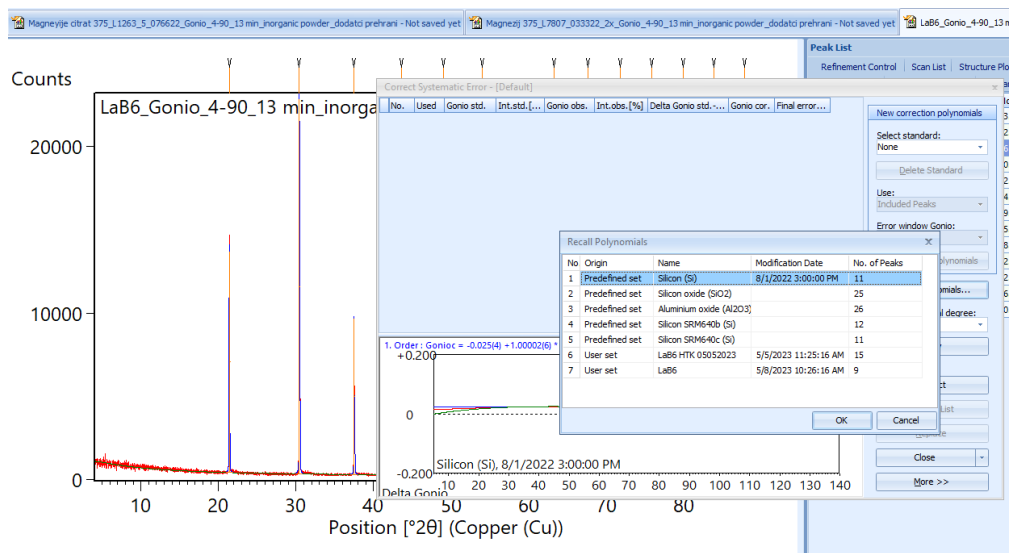
**Slika 21.** Difrakcijska slika uzorka  $\text{LaB}_6$  snimljena u ADS modu (eng. *Automatic divergent slit*), s označenim Bckg i difrakcijskim maksimumima

Potrebno je provesti korekciju za divergentni slit odnosno korigirati ADS u FDS podatke (eng. *Fixed Divergence Slit*). U FDS modu je ozračen volumen ispitivanog uzorka konstantan. Korištenjem ADS načina rada prikupljeni podaci pri višim kutovima difrakcije imaju veći intenzitet u usporedbi s fiksnim divergentnim prorezima obzirom da se volumen ozračenog uzorka povećava s povećanjem kutova. Slika 22. prikazuje korekciju za fiksni divergentni slit.

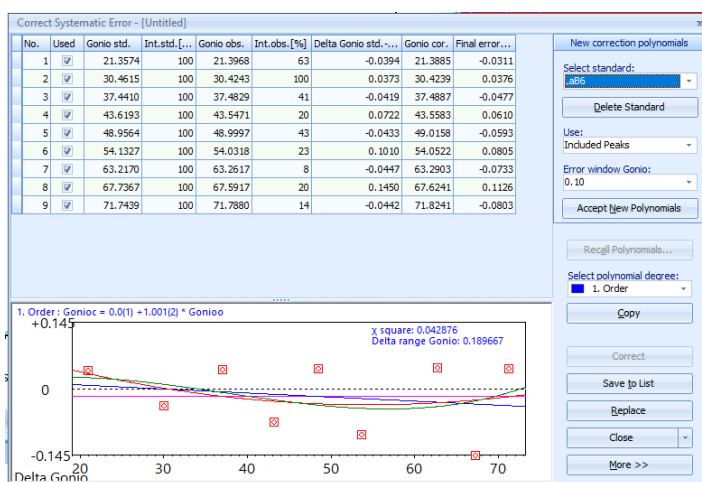


**Slika 22.** Korekcija za divergentni slit

Za provedbu sistematske korekcije kao što je to ovdje slučaj mjereni podaci prikupljeni korištenjem standarda LaB<sub>6</sub> kao uzorka služi za generiranje matematičke funkcije (koja je uglavnom polinom drugog ili trećeg reda) koja će na temelju odstupanja pozicije difrakcijskih maksimuma standardnog uzorka i teoretskih vrijednosti LaB<sub>6</sub> (slika 19. LaB<sub>6</sub> iz baze) definirati za svaki pojedini maksimum odstupanje te iz tih odstupanja definirati koja matematička funkcija najbolje opisuje ta odstupanja. Bitno je naglasiti da se generirana matematička formula odnosi na točno definirani raspon mjerenih podataka. Stoga svako odstupanje od mjernog područja, ako je mjereno područje šire, nužno je napraviti ponovno kalibracijsku krivulju za provedbu sistematske korekcije. Slika 23. daje uvid u postupak provođenja korekcije na sistematske pogreške, dok slika 24. prikazuje odstupanje eksperimentalnih podataka za LaB<sub>6</sub> u odnosu na standard. prema CIF file od LaB<sub>6</sub>.



Slika 23. Korekcija za sistemske pogreške

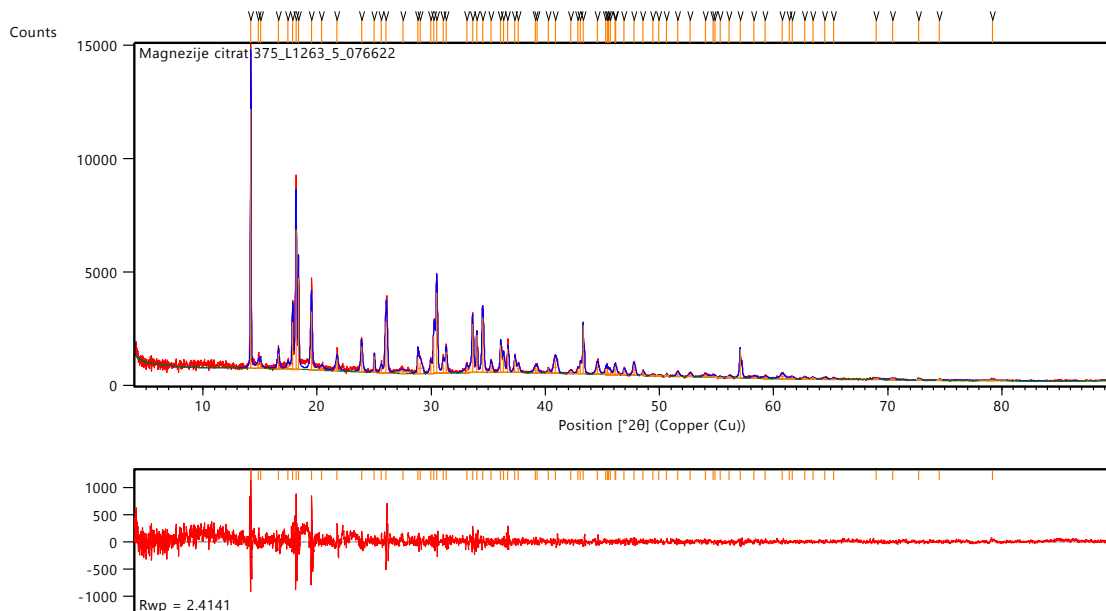


Slika 24. Odstupanja eksperimentalnih podataka za LaB<sub>6</sub> u odnosu na standard prema CIF file od LaB<sub>6</sub>

### 3.2. Obrada difrakcijske slike

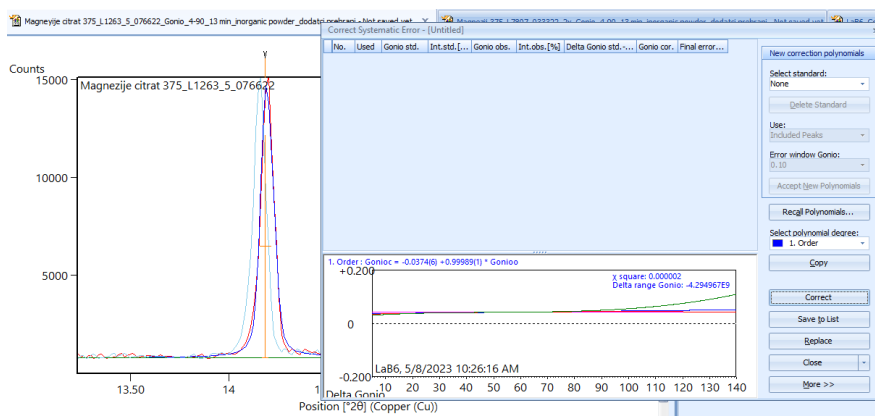
Difrakcijska slika uzorka Magnezijeva citrata 375 nakon određivanja pozadinskog zračenja, pronađenih pozicija difrakcijskih maksimuma, provedene korekcije na sistemske pogreške i utočnenog profila difrakcijskih maksimuma prikazana je na slici 25. Utočnjavanje difrakcijskih profila je provedeno uz postavke da se u funkciju utočnjavanja uključi i dio asimetrije difrakcijskih maksimuma uz korištenja Voit-ove funkcije. Rwp vrijednost prikazana ispod difrakcije slike ukazuje na dobro slaganje korištenog modela utočnjavanja s mjernim, eksperimentalnim

difrakcijskim maksimumima. Što je manja vrijednost  $R_{wp}$  to je točnije određena pozicija difrakcijskih maksimuma prisutnih u difrakcijskoj slici, ali i ostali parametri kao što je intenzitet, širina na polovici intenziteta te asimetrija svakog difrakcijskog maksimuma.



**Slika 25.** Difrakcijska slika Magnezijevog citrata 375 nakon utočnjavanja i prikaz  $R_{wp}$  vrijednosti

Nakon utočnjavanja profila difrakcijskih maksimuma može se provesti korekcija na sistematske pogreške. Provedbom procedure za uklanjanje sistematskih pogreški pozicije mjernih difrakcijskih maksimuma pomiču se prema stvarnim vrijednostima. Metoda koja je korištena je metoda vanjskog standarda,  $LaB_6$ .



**Slika 26.** Korekcija sistematskih pogreški kod uzorka Magnezijevog citrata 375

Na slici 26. je vidljiv pomak koji će se dogoditi nakon primjene procedure za sistematsku korekciju i taj pomak je simuliran na eksperimentalnim podacima prikazanim na slici svjetlo plavom bojom. Dakle, ono što se događa u korekciji sistematskih pogreški je samo pomak mjernih podataka prema polinomu koji je utvrđen uz mjerni standard uspoređen s teoretskim vrijednostima pozicije difrakcijskih maksimuma.

Ovako pripremljeni mjerni podaci s provedenim korekcijama koje uključuju korekciju za divergentni slit (ADS u FDS) i sistematsku pogrešku predstavlja difrakcijsku sliku koja se koristi za faznu ili tzv. mineralošku analizu svih materijala. Napomena, za sve ostale tipove korekcija koje mogu biti hrapavost površine, odstupanje visine iz fokusa, preferirana orijentacija itd. Iste trebaju biti uključene u korekciju prije provedbe strukturnih utočnjavanja ili mineraloške analize ako su iste prisutne u mjernim podacima.

### **3.3. Mineraloška analiza difrakcijskih slika**

Mineraloška analiza provodi se usporedbom korigiranih mjernih podataka i to pozicije difrakcijskih maksimuma i njima pripadajućih intenziteta i njihovih relativnih omjera s podacima deponiranim u bazama podataka.

#### **3.3.1. Baze podataka koje se koriste u identifikaciji strukturno uređenih tvari prisutnih u difrakcijskim slikama**

ICSD baza podataka je sveobuhvatna zbirka koja sadrži kristalografske podatke vezane za strukture spojeva kojima je određena struktura metodom snimanja monokristala. Ista omogućava pretraživanje po različitim pojmovima kao što je kemijski sastav, naziv časopisa, DOI, parametri jedinične ćelije, volumen ćelije, simetrijski elementi (simbol i broj prostorne grupe) itd. U svrhu provedbe postupka kalibracije i uklanjanja sistematskih pogreški potrebno je provesti mjerenje nad standardom te je u računskom dijelu nužno raspolagati s CIF (eng. *Crystallographic Information File*) modelom koji omogućava provedbu korekcije. Na slici 27. prikazano je sučelje korišteno u ICSD bazi.

ICSD

Welcome to ICSD Web. Logged in: Drazan, Joszic

Content Selection **Basic Search & Retrieve**

Experim. inorganic structures  
 Experim. metal-organic str.  
 Theoretical structures

**Navigation**  
 Basic search & retrieve  
 Advanced search & retrieve  
 Bibliography  
 Cell  
 Chemistry  
 Symmetry  
 Crystal Chemistry  
 Structure Type  
 Experimental Information  
 DB Info  
 Expert Search

**Query Management**  
 Manage Queries  
 List Combined Queries  
 Create Combined Query

**ICSD links**  
 ICSD News

**Free Text Search**  
 General Attributes

**Bibliography**  
 Authors  Year of Publication   
 Title of Journal   
 Title of Article   
 DOI

**Chemistry**  
 Composition   Number of Elements

**Cell**  
 Cell Parameters   
 Cell Volume  Tolerance +/-  %

**Symmetry**  
 Space Group Symbol  Space Group Number   
 Crystal System  Centering

**Exp. Info. & Ref. Data**  
 New Data Only   
 PDF Number  Temperature  K  
 ICSD Collection Code  Pressure  MPa

**Slika 27.** Sučelje u ICSD bazi podataka

Lantanov heksaborid je spoj koji je korišten kao standard. Rezultat pretraživanja uključuje cijeli niz spojeva koji su deponirani u ICSD bazi, a u sebi sadrže ključne riječi koje smo unijeli u početni izbornik u polje za pretraživanje prema traženim ključnim riječima. Tako za pretraživanje LaB<sub>6</sub> (lantanovog heksaborida) rezultat pretraživanja je prikazan na slici 28.:



Results: List View # of Hits: 33

<input type="checkbox"/>	Coll. Code	HMS	Struct. Form.	Struct. Type	Title	Authors	Reference	☆	1
<input type="checkbox"/>	40947	P m -3 m	La B6	CaB6	X-ray structural investigati	Eliseev, A.A.; Efremov, V	Kristallografiya (1986) 31, 1	☆	<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	120585	P m -3 m	La B6	CaB6	Low temperature synthesis:	Simsek, Tuncay; Chattopa	Journal of Solid State Cher	☆	<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	152466	P m -3 m	La B6	CaB6	Rietveld refinement of La B	Ning Guangrong; Flemmin	Journal of Applied Crystall	☆	<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	248437	P m -3 m	La B6	CaB6	Local and average crystal	Booth, C.H.; Sarrao, J.L.;	Physical Review B: Conde	☆	<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	248438	P m -3 m	La B6	CaB6	Local and average crystal	Booth, C.H.; Sarrao, J.L.;	Physical Review B: Conde	☆	<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	248439	P m -3 m	La B6	CaB6	Local and average crystal	Booth, C.H.; Sarrao, J.L.;	Physical Review B: Conde	☆	<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	248440	P m -3 m	La B6	CaB6	Local and average crystal	Booth, C.H.; Sarrao, J.L.;	Physical Review B: Conde	☆	<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	612685	P m -3 m	La B6	CaB6	The structure of high-temp	Korsukova, M.M.; Gurin, V	Journal of the Less-Comm	☆	<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	100930	P m -3 m	La B6	CaB6	Magnetic susceptibility of L	Ayvizov, M.I.; Aleksandrov	Physics of Metals and Met.		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	194636	P m -3 m	La B6	CaB6	Structural refinement and t	Chen, Chun-Hua; Aizawa,	Journal of Alloys and Com		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	196907	P m -3 m	La B6	CaB6	The borides of some transi	Kiessling, Roland	Acta Chemica Scandinav		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	198728	P m -3 m	La B6	CaB6	Borides of rare earth and r	Post, B.; Moskovitz, D.; G	Plansee Proceedings, Pap		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	199000	P m -3 m	La B6	CaB6	Production and X-ray invest	Mamedov, F.G.; Meerson,	Inorganic Materials (1967)		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	199026	P m -3 m	La B6	CaB6	Physicochemical propertie	Timofeeva, I.I.; Timofeeva,	Inorganic Materials (1968)		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	199064	P m -3 m	La B6	CaB6	Rare-earth element hexabi	Mordovin, O.A.; Timofeeva	Russian Journal of Inorgan		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	259514	P m -3 m	La B6	CaB6	X-ray analysis of the lanthi	Zhuravlev, N.N.; Manelis, F	Soviet Powder Metallurgy ;		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	259515	P m -3 m	La B6	CaB6	X-ray analysis of the lanthi	Zhuravlev, N.N.; Manelis, F	Soviet Powder Metallurgy ;		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	259516	P m -3 m	La B6	CaB6	X-ray analysis of the lanthi	Zhuravlev, N.N.; Manelis, F	Soviet Powder Metallurgy ;		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	259517	P m -3 m	La B6	CaB6	X-ray analysis of the lanthi	Zhuravlev, N.N.; Manelis, F	Soviet Powder Metallurgy ;		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	614585	P m -3 m	La B6	CaB6	On the homogeneity range	Paderno, Yu.B.; Lundstro	Acta Chemica Scandinav		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	614588	P m -3 m	La B6	CaB6	Superconductivity of the br	Shulishova, O.I.; Shcherba	Inorganic Materials (1967)		<input type="button" value="↓"/>
<input type="checkbox"/>	614590	P m -3 m	La B6	CaB6	Thermal properties of met	Dutchak, Ya.I.; Fedyshe	Inorganic Materials (1972)		<input type="button" value="↓"/>

**Slika 28.** Rezultat pretrage za standard LaB<sub>6</sub>

Među rezultatima posebno su istaknuti mjerni podaci koji imaju visoki stupanj pouzdanosti te su isti označeni sa zvjezdicom. To je uobičajeni način označavanja spojeva u svim kristalografskim bazama te se isti nazivaju High Quality Data ili Star quality. Za svaki spoj na popisu navodi se referentni kod spoja koji u navedenoj bazi uvijek dovodi do istih podataka. Kao što je iz slike iznad vidljivo za primjer pretraživanja baze po kemijskom sastavu za LaB<sub>6</sub> rezultat pretraživanja su 33 CIF kartice s definiranim referentnim brojem. Iste se razlikuju u načinu snimanja, uvjetima snimanja kao i kvaliteti podataka što je razlog potrebnog referiranja u radovima koji podatci su korišteni kao referentni.

Svaka kartica u ICSD bazi sadrži podatke o spoju razvrstane u različita polja (podaci sadržani u poljima kartice služe za pretraživanje baze i filtriranje rezultata pretraživanja). Iz kartice možemo vidjeti kako izgleda kristalna struktura spoja te kakav je njen uzorak na difraktometru. Također dobivamo uvid u eksperimentalne informacije, molekulsku masu spoja te možemo vizualno usporediti standardiziranu i objavljenu kristalnu strukturu. Podaci o spoju u ICSD bazi prikazani su na slici 29.

Entry 1 of 33

Back to Query Back to List

CCDC Export Cif Print Feedback to Editor

Visualization

**Published Crystal Structure**

HM: P m -3 m #221  
a=4.157Å  
b=4.157Å  
c=4.157Å  
α=90.000°  
β=90.000°  
γ=90.000°

Interactive Visualization

**Powder Pattern**

Interactive Visualization

Chemistry

Sum. formula	B6 La1	Struct. formula	La B6
Molecular weight	203.7760 [u]	Z	1
ANX formula	NO6	AB formula	AB6
Chemical name	Lanthanum boride (1/6)		

ICSD Welcome to ICSD Web. Logged in: Dragan, Joszik FIZ Karlsruhe | Contact Change Password | Logout

Entry 1 of 33

Back to Query Back to List

CCDC Export Cif Print Feedback to Editor

Collection Code 40947

**Summary**

Struct. formula	La B6	Structure type	CaB6
Cell parameter	4.1570(1) 4.1570(1) 4.1570(1) 90. 90. 90.	Space group	P m -3 m (221)
Cell volume	71.84 [Å³]	Z	1
Temperature	room temperature	Pressure	atmospheric
Data quality	High quality		
Author	Eliseev, A.A.; Efremov, V.A.; Kuz'micheva, G.M. (Kuzmicheva, G.M.); Konovalova, E.S.; Lazorenko, V.I.; Paderno, Yu.B.; Khyustova, S.Y.	Title	X-ray structural investigation of single crystals of lanthanum, cerium, and samarium hexaborides
Reference	Kristallografiya (1986) 31, p. 803-805		

**Details** Expand all Collapse all

- Visualization
- Chemistry
- Published Crystal Structure Data
- Standardized Crystal Structure Data
- Distances and Angles
- Bibliography
- Experimental information
- Additional information
- Compare Published and Standardized Structure

Entry 1 of 33

Back to Query Back to List

CCDC Export Cif Print Feedback to Editor

Published Crystal Structure Data

Cell parameter	4.1570(1) 4.1570(1) 4.1570(1) 90. 90. 90.	Space group	P m -3 m (221)
Cell volume	71.84 Å³	Z	1
Crystal system	cubic	Crystal class	m-3m
Laue class	m-3m		
Structure type	CaB6		
Pearson symbol	cP7		
Wyckoff sequence	f a	Axis ratios	a/b 1.0000 b/c 1.0000 c/a 1.0000
Calc. density	4.71 [g/cm³]	Meas. density	4.71 [g/cm³]

EL	Lbl	OxState	Wyck Symb	X	Y	Z	SOF	U
La	1	+0.00	1 a	0	0	0	1	0.0052
B	1	+0.00	6 f	0.1975(1)	0.5	0.5	1	0.0041

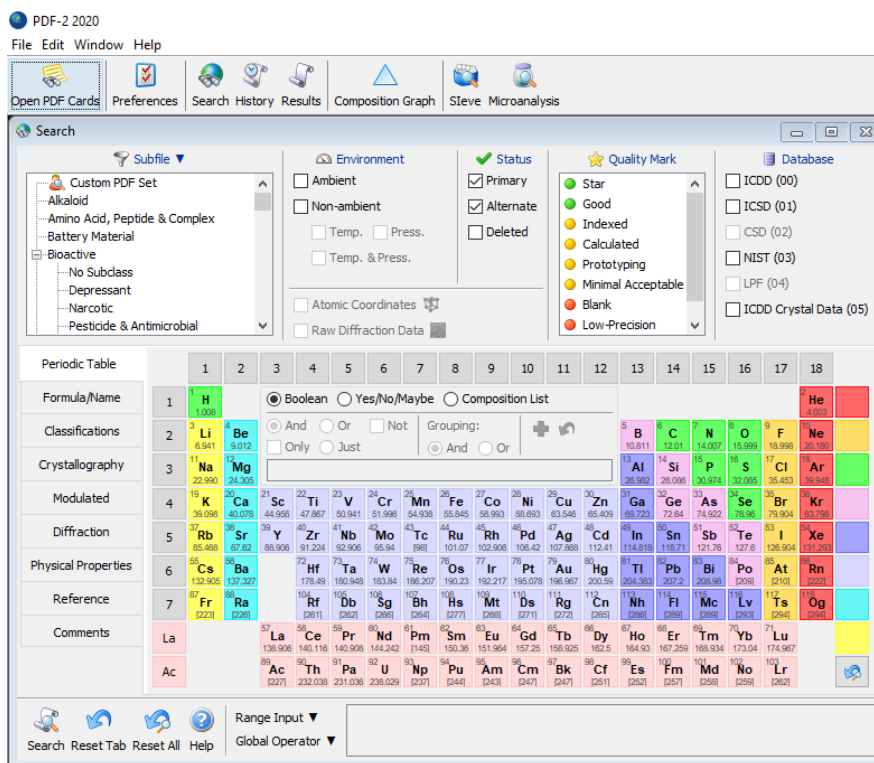
Standardized Crystal Structure Data

Cell parameter	4.1570 4.1570 4.1570 90.000 90.000 90.000	Space group	P m -3 m (221)
Cell volume	71.84 Å³	Z	1
Crystal system	cubic	Crystal class	m-3m
Laue class	m-3m		
Structure type	CaB6		
Pearson symbol	cP7		
Wyckoff sequence	f a	Axis ratios	a/b 1.0000 b/c 1.0000 c/a 1.0000

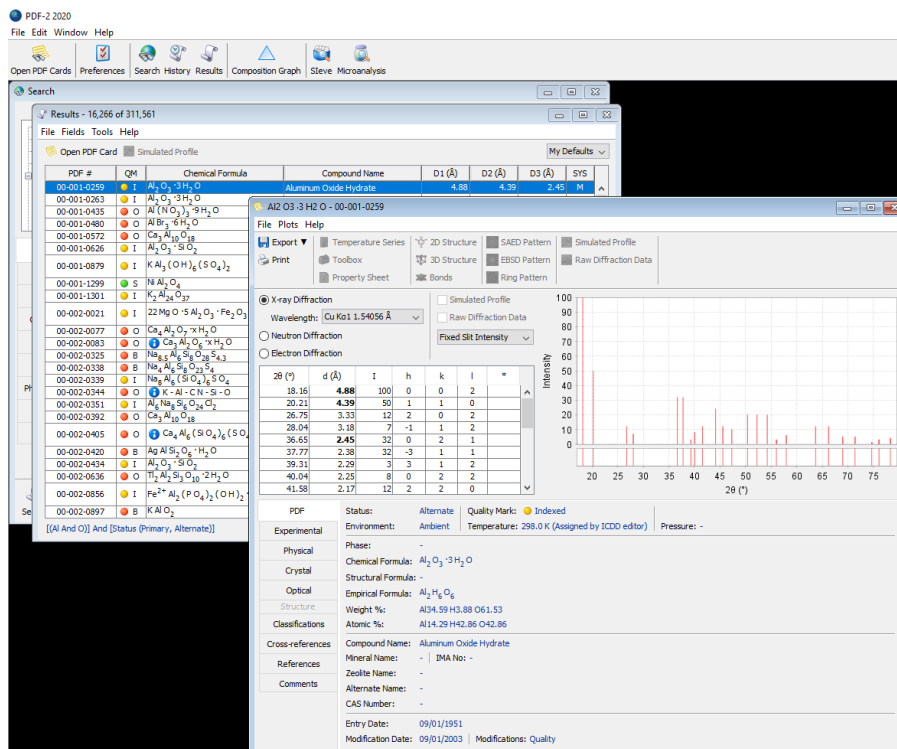
EL	Lbl	OxState	Wyck Symb	X	Y	Z	SOF	U
La	1	+0.00	1 a	0.0000	0.0000	0.0000	1	0.0052
B	1	+0.00	6 f	0.1975	0.5000	0.5000	1	0.0041

**Slika 29.** Podaci o spoju lantanovog heksaborida sadržani unutar kartice u ICSD bazi podataka

U analizi difrakcijske slike dodatka prehrani korištena je baza ICDD PDF2 (Released 2020) u prvom pretraživanju bez primijenjenih ograničenja (filtera za pretraživanje baze). Na slici 30. je prikazano sučelje za pretraživanje baze podataka koje omogućava uvid u deponirane difrakcijske slike praškastih uzorka u navedenoj bazi, a na slici 31. rezultat jednog pretraživanja.

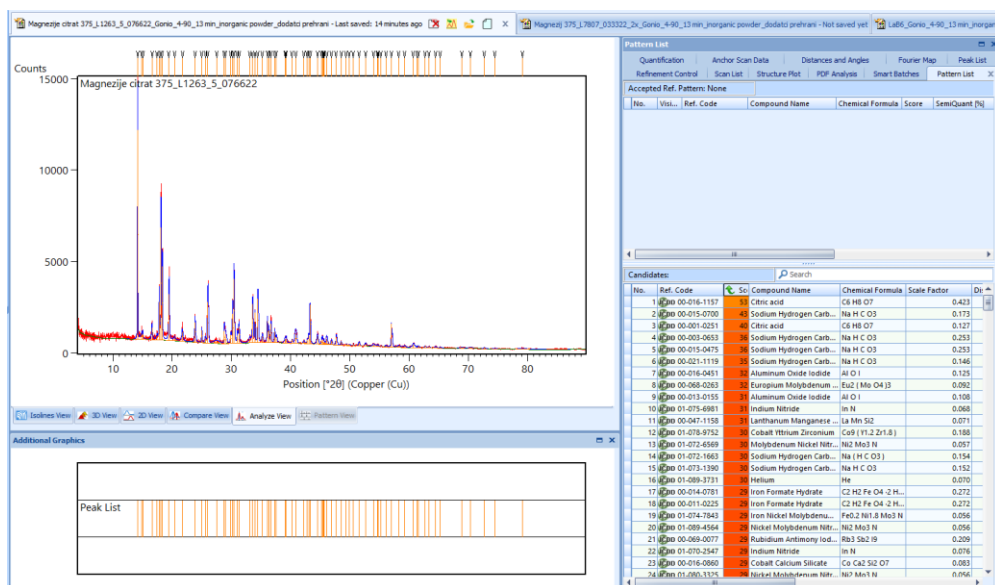


Slika 30. Prikaz sučelja za pretraživanje ICDD PDF2 baze podataka



Slika 31. Rezultat jednog pretraživanja u navedenoj bazi

U direktnom korištenju baze omogućeno je pretraživanje baze prema nizu ključnih riječi koje uključuju kemijski sastav, optička svojstva, DOI, časopis, autore, kristalni sustav itd. Ista baza je integrirana u program HighScore Plus, proizvod od Malvern Panalytical koji omogućava pretraživanje i uspoređivanje deponiranih difrakcijskih podataka u bazi s eksperimentalno dobivenim podacima. Rezultat pretraživanja bez ograničavajućih faktora prikazan je na slici 32.



Slika 32. Prikaz podataka bez ograničavajućih faktora

Rezultat pretraživanja je dan u obliku tablice potencijalnih kandidata uz naglašenu vjerojatnoću da se isti nalaze u ispitivanom uzorku u stupcu Score. Izgled tablice prikazan je na slici 33.

No.	Ref. Code	Score	Compound Name	Chemical Formula	Scale Factor
1	00-016-1157	53	Citric acid	C6 H8 O7	0.423
2	00-015-0700	43	Sodium Hydrogen Carb...	Na H C O3	0.173
3	00-001-0251	40	Citric acid	C6 H8 O7	0.127
4	00-003-0653	36	Sodium Hydrogen Carb...	Na H C O3	0.253
5	00-015-0475	36	Sodium Hydrogen Carb...	Na H C O3	0.253
6	00-021-1119	35	Sodium Hydrogen Carb...	Na H C O3	0.146
7	00-016-0451	32	Aluminum Oxide Iodide	Al O I	0.125
8	00-068-0263	32	Europium Molybdenum ...	Eu2 ( Mo O4 )3	0.092
9	00-013-0155	31	Aluminum Oxide Iodide	Al O I	0.108
10	01-075-6981	31	Indium Nitride	In N	0.068
11	00-047-1158	31	Lanthanum Manganese ...	La Mn Si2	0.071
12	01-078-9752	30	Cobalt Yttrium Zirconium	Co9 ( Y1.2 Zr1.8 )	0.188
13	01-072-6569	30	Molybdenum Nickel Nitr...	Ni2 Mo3 N	0.057
14	01-072-1663	30	Sodium Hydrogen Carb...	Na ( H C O3 )	0.154
15	01-073-1390	30	Sodium Hydrogen Carb...	Na H C O3	0.152
16	01-089-3731	30	Helium	He	0.070
17	00-014-0781	29	Iron Formate Hydrate	C2 H2 Fe O4 · 2 H...	0.272
18	00-011-0225	29	Iron Formate Hydrate	C2 H2 Fe O4 · 2 H...	0.272
19	01-074-7843	29	Iron Nickel Molybdenu...	Fe0.2 Ni1.8 Mo3 N	0.056
20	01-089-4564	29	Nickel Molybdenum Nitr...	Ni2 Mo3 N	0.056
21	00-069-0077	29	Rubidium Antimony Iod...	Rb3 Sb2 I9	0.209
22	01-070-2547	29	Indium Nitride	In N	0.076
23	00-016-0860	29	Cobalt Calcium Silicate	Co Ca2 Si2 O7	0.083
24	01-080-3325	29	Nickel Molybdenum Nitr...	Ni2 Mn3 N	0.056

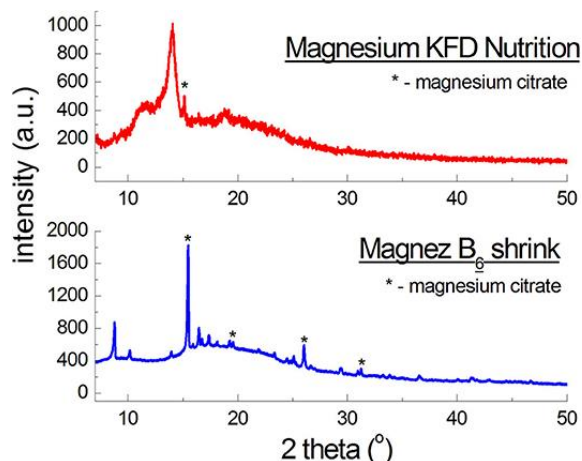
Slika 33. Prikaz kandidata koji se mogu pronaći u ispitivanom uzorku uz naglašen postotak vjerojatnoće

### 3.4. Primjena difrakcijskih tehnika i metoda u analizi dodataka prehrani

Obzirom da se kod većine dodataka prehrani prilikom izlaska na tržište ne provodi stroga kontrola kvalitete korištenih komponenti, koriste se dostupne ispitne metode kojima je moguće otkriti njihov mineraloški sastav. To je posebno važno jer neki proizvođači koriste strukturne analoge i kemijske spojeve slične onima koji se dodaju u pripravi lijekova. Ovakvi pripravci uobičajeno izazivaju brojne negativne učinke za zdravlje. Uz standardne metode za ispitivanje dodataka prehrani koji sadrže vitamine i minerale poput kromatografije i ekstrakcije, neki primjeri analiza provedenih na sličnim uzorcima ukazuju na efikasnost primjene XRD tehnike u iste svrhe.<sup>38</sup>

U Institutu za kemiju na Fakultetu znanosti i tehnologije u Poljskoj Izabela Jendrzejewska<sup>38</sup> provela je analizu dodataka prehrani koji sadrže magnezij i kalcij. Rendgenskom difrakcijskom analizom omogućeno je dokazivanje prisutnosti spojeva magnezija i kalcija koje je proizvođač istaknuo na deklaraciji proizvoda te utvrđivanje kristalne strukture istih. Svaka kristalna tvar ima karakterističan difraktogram koji sadrži specifične položaje difraktiranih linija i njihove intenzitete. Najznačajniji uvjet pri analiziranju gdje se utvrđuje nazočnost određene faze je kompatibilnost položaja difrakcijskih linija na difrakcijskoj slici ispitivanog uzorka s položajima difrakcijskih linija na difrakcijskoj slici u bazi podataka. Pomak difrakcije za pojedinačni kut  $2\theta$  ne bi trebao odstupati više od  $0,2^\circ$  u usporedbi s podacima iz baze podataka. Pomak veći od  $0,2^\circ$  ukazuje na drugačiju kristalnu strukturu.

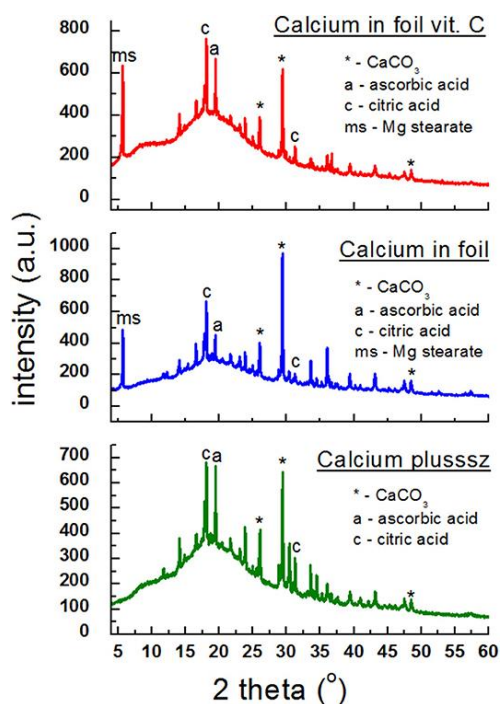
Magnezij citrat je jedan od spojeva koji se često pronalazi u dodacima prehrani. Provedeno istraživanje u Poljskoj<sup>38</sup> proučavalo je 2 proizvoda u čijem se sastavu nalazi ovaj spoj, a to su *Magnez B<sub>6</sub> skurcz INV Poland* i *Magnesium KFD Nutrition*. Sadržaj magnezijevog citrata deklariranog od strane proizvođača iznosi 100 mg u jednoj tableti za *Magnez B<sub>6</sub> skurcz INV Poland*, te 125 mg za *Magnesium KFD Nutrition*. Slika 34. prikazuje rezultate provedene XRD analize.



**Slika 34.** Prikaz difrakcijskih slika dodataka prehrani koji sadrže magnezijev citrat<sup>38</sup>

Kod uzorka *Magnesium KFD Nutrition* uočavamo pojavu jednog difrakcijskog maksimuma pri  $2\theta$  vrijednosti  $15^\circ$  gdje se uočava najjača difrakcijska linija za magnezijev citrat, dok kod *Magnez B<sub>6</sub> skurcz INV Poland* su izražena četiri difrakcijska maksimuma pri  $2\theta$  vrijednostima:  $15^\circ$ ,  $19^\circ$ ,  $26^\circ$  i  $32^\circ$ . Obzirom da je linija pri  $2\theta$  vrijednosti  $15^\circ$  kod proizvoda *Magnesium KFD Nutrition* nižeg intenziteta unatoč većoj deklariranoj količini od strane proizvođača, zaključujemo da proizvod sadrži značajno manju količinu magnezijevog citrata od propisane. Pomak difrakcije za pojedinačni kut  $2\theta$  kod *Magnez B<sub>6</sub> skurcz INV Poland* niži je od  $0,2^\circ$ , dok kod *Magnesium KFD Nutrition* prelazi tu vrijednost. Iz navedenih rezultata možemo pretpostaviti da se u sastavu proizvoda nalazi tvar koja daje difrakcijski uzorak sličan magnezijevom citratu.<sup>38</sup>

Kalcijev karbonat izvor je kalcija u dodacima prehrani ispitivanim ovim istraživanjem. Promatrana su tri pripravka čiji nazivi su sljedeći: *Calcium pluszsz Polski lek*, *Calcium in foil ZDROVIT NATUR PRODUKT PHARMA* i *Calcium in foil + vit.C ZDROVIT NATUR PRODUKT PHARMA*.<sup>38</sup> Osim difrakcijskih maksimuma kalcijeva karbonata kao djelatne tvari, na difraktogramu možemo očitati difrakcijske maksimume pomoćnih tvari poput limunske kiseline, askorbinske kiseline i magnezijevog stearata. Usprkos tome što askorbinska kiselina nije navedena kao dio sastava na deklaraciji, detektirana je u *Calcium pluszsz Polski lek* i *Calcium in foil ZDROVIT NATUR PRODUKT PHARMA*. Tri karakteristične difrakcijske linije kalcijeva karbonata pri  $2\theta$  vrijednostima  $26^\circ$ ,  $29^\circ$  i  $49^\circ$  u sva tri pripravka uočljive su na difraktogramima prikazanim na slici 35.



**Slika 35.** Prikaz difrakcijskih slika dodataka prehrani koji sadrže kalcijev karbonat<sup>38</sup>

Sadržaj kalcijevog karbonata deklariran od strane proizvođača u jednoj tableti za sva tri pripravka iznosi 300mg. Autori na temelju difrakcijske linije kalcijevog karbonata na difraktogramima koji su približno istog intenziteta koriste za utvrđivanje količine spoja te potvrđuju da je ona u skladu s deklariranom. Također, ustanovljena je zadovoljavajuća usklađenost vrijednosti kutova 2θ sa standardom u bazi podataka što upućuje na to da je isti kristalni oblik spoja prisutan u ovim dodacima prehrani te da su isti autentični. Navedeni primjeri upućuju na to da se odgovarajuće komponente uspješno mogu determinirati XRD metodom. Nedostatak linija ili prisutnost dodatnih linija, kao i pomaci linija na difraktogramu upozoravaju na patvorenje proizvoda. Kada rezultat analize dovodi u pitanje autentičnost proizvoda, preporučljivo je ispitivanje proširiti drugim metodama. Kvalitetniji rezultati dobiju se primjenom više detekcijskih tehnika.<sup>38</sup>

U eksperimentalnom dijelu ovog završnog rada korišteni su dodaci prehrani tvrtke Dietpharm i to: Magnezij citrat 375, Magnezij 375, Calcium 600, Kalcij + C te Kalcij citrat + D u svrhu utvrđivanja mogućnosti primjene difrakcijskih tehnika u analizi dodataka prehrani kao i sukladnosti eksperimentalno utvrđenog mineralološkog sastava dodatka prehrani s deklariranim sastavom.

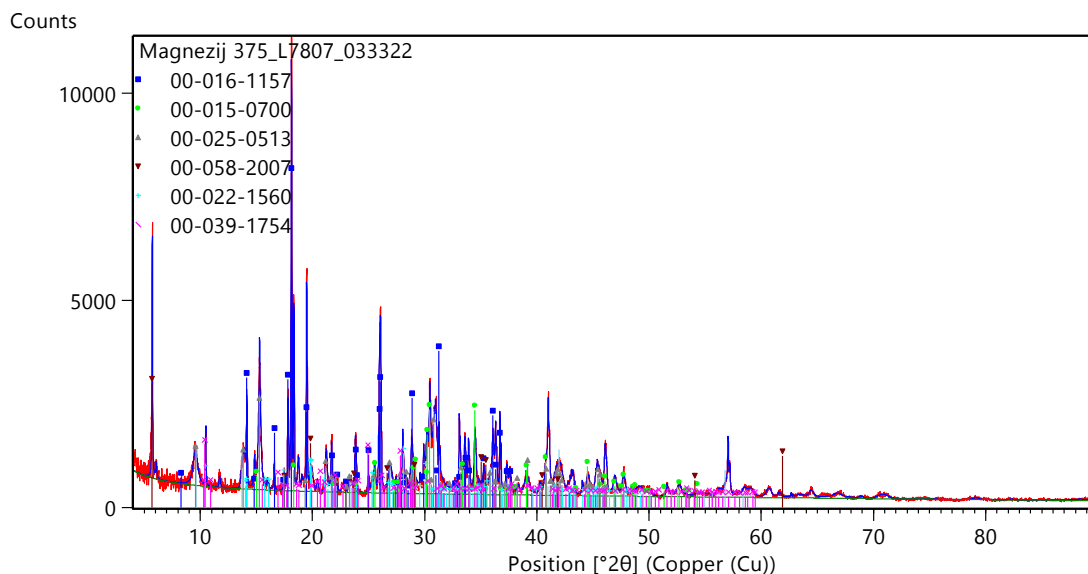


Prema Pravilniku o informiranju potrošača o hrani, 375 mg magnezija na dan je dovoljno za održavanje zdravlja. Proizvođač je deklarirao da je u jednoj šumećoj tableti sadržaj magnezija 375 mg što odgovara preporučenom dnevnom unosu, stoga je preporučljivo koristiti ovaj dodatak prehrani jer lako i brzo možemo unijeti potpunu potrebnu količinu minerala. Doprinos ravnoteži elektrolita, normalnoj funkciji mišića i živčanog sustava te sintezi bjelančevina su neki od ključnih benefita ovoga pripravka. Preporuča se svim osobama, a posebice onima koje se bave sportom i rekreacijom. Također je pogodan za pojedince koji osjećaju manjak energije i umor.<sup>47</sup> O kemijskom obliku magnezija prisutnog u dodatku prehrani ovisi kolika će količina minerala biti iskorištena u organizmu. Nije poželjno konzumirati magnezijeve soli u većim koncentracijama nego što je potrebno, obzirom da se većina njih slabo apsorbira te mogu djelovati lokalno u probavnom sustavu i izazvati gastrointestinalne tegobe u vidu laksativnog učinka.<sup>48</sup> Poznato je da se anorganski oblici magnezija slabije apsorbiraju u odnosu na organske magnezijeve soli. Istraživanjem koje su proveli J. S. Linberg i sur.<sup>49</sup> ispitivana je topljivost različitih oblika soli magnezija uspoređujući apsorpciju magnezijeva oksida kao anorganskog oblika i magnezijeva citrata kao predstavnika organske magnezijeve soli.<sup>49</sup> Dokazano je da magnezijev citrat visoko topljiv u vodi, dok je magnezijev oksid slabo topljiv. Izvršeno je testiranje apsorpcije dvaju spojeva na zdravim dobrovoljcima, a rezultat analize je pokazao značajno bolju apsorpciju magnezijeva citrata. Zbog brže apsorpcije i visoke bioraspoloživosti pripravak Magnezijev citrat 375 smatra se boljim odabirom.<sup>49</sup> Dietpharm dodatak prehrani Calcium 600 ne osigurava preporučeni dnevni unos minerala. Uz korištenje suplementacije, potrošači također moraju konzumirati hranu bogatu kalcijem kako bi osigurali potrebe za njim. U tijelu je uglavnom vezan u kostima i zubima, stoga je unos kalcija bitan radi njihovog održavanja i preporuča se posebice starijim osobama.<sup>50</sup> Pri konzumiranju dodatka prehrani treba bit umjeren obzirom da može doći do hiperkalcemije, to jest povišene razine kalcija u krvi. Kalcitonin i paratireoidni hormon upravljaju razinom kalcija u krvi, stoga visoke koncentracije kalcija mogu uzrokovati disbalans hormona.<sup>51</sup> Jedna tableta pripravka Kalcij + C sadrži 63% preporučenog dnevnog unosa kalcija za odrasle i 313% preporučenog dnevnog unosa vitamina C. Dobrobiti kalcija već su opisane, a vitamin C snižava razinu iscrpljenosti i umora. Kalcij + C preporuča se svima koji žele održati normalan rad imunološkog sustava.<sup>52</sup>

Obzirom da pripravak sadrži više vitamina C nego što je potrebno za podmirivanje dnevnih potreba, poželjno je pristupiti konzumiranju s velikim oprezom jer višak vitamina C može izazvati smetnje poput dijareje kao i promjene u menstrualnom ciklusu.<sup>53</sup> Vitamin D u pripravku Kalcij citrat + D pridonosi boljoj apsorpciji kalcija. Proizvod se preporuča fizički aktivnim i starijim osobama za očuvanje zdravlja kostiju, a sadrži 100% preporučenog dnevnog unosa vitamina D i 75% preporučenog dnevnog unosa kalcija za odrasle.<sup>54</sup> U dodacima prehrani kalcij se može pojaviti u obliku raznih soli, stoga apsorpcija kalcija varira ovisno o korištenoj soli. Na primjer, kalcijev citrat se izvrsno apsorbira neovisno uzima li se s hranom ili ne, dok se kalcijev karbonat bolje apsorbira kada se konzumira zajedno s hranom jer apsorpcija ovisi o želučanoj kiselini.<sup>55</sup> Preporuča se umjerena konzumacija vitamina D kao dodatka prehrani jer prevelike doze dovode do visoke razine kalcija u krvi.<sup>56</sup>

### **Magnezij 375**

Prema podacima vidljivima na deklaraciji proizvoda, dodatak prehrani Magnezij 375 sadrži magnezijev karbonat kao izvor magnezijevih iona. Osim glavne komponente, u pripravak su dodani odgovarajući spojevi koji unutar šumeće tablete izvršavaju specifične funkcije. Prema deklaraciji pripravak sadrži sljedeće spojeve: limunsku kiselinu, potom natrijev bikarbonat kao regulator kiselosti, zatim sorbitol, L-askorbinsku kiselinu, inulin i kukuruzni škrob kao tvari za povećavanje volumena. Natrijev saharin, natrijev ciklamat i piridoksin hidroklorid se nalaze u sastavu proizvoda jer imaju funkciju sladila, a riboflavini se koriste kao bojilo.



**Slika 36.** Difraktogram uzorka Magnezij 375

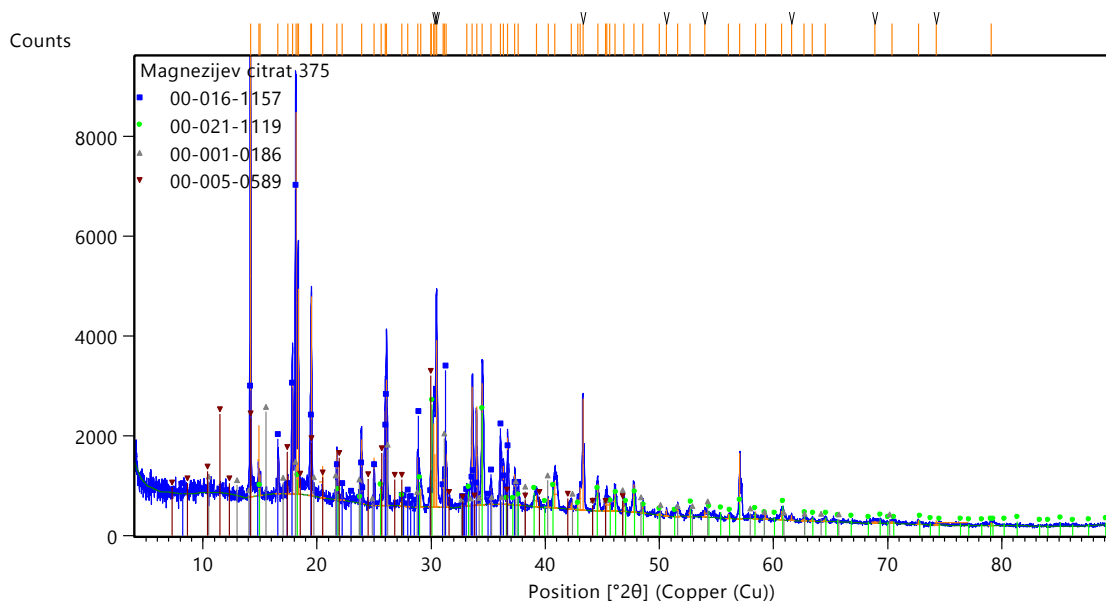
**Tablica 6.** Minerološki sastav uzorka Magnezij 375

Referentni kod	Naziv spoja	Kemijska formula
00-016-1157	Limunska kiselina	$C_6H_8O_7$
00-015-0700	Natrijev bikarbonat	$NaHCO_3$
00-025-0513	Magnezijev karbonat hidroksid hidrat	$Mg_5(CO_3)_4(OH)_2 \cdot 4 H_2O$
00-058-2007	Kalcij magnezij aluminij silikat hidroksid hidrat	$Ca_{0.2}(Al,Mg)_2Si_4O_{10}(OH)_2 \cdot nH_2O$
00-022-1560	Askorbinska kiselina	$C_6H_8O_6$
00-039-1754	Piridoksin hidroklorid	$C_8H_{12}ClNO_3$

Rezultati mineraloške analize koja je provedena na uzorku prikazani su u tablici 6. i ukazuju na prisutnost limunske kiseline (PDF 00-016-1157), natrijeva bikarbonata (PDF 00-015-0700), magnezijeva karbonata hidroksid hidrata (PDF 00-025-0513), kalcij magnezij aluminij silikat hidroksid hidrata (PDF 00-058-2007), askorbinske kiseline (PDF 00-022-1560) i piridoksin hidroklorida (PDF 00-039-1754). Prisutnost navedenih mineralnih vrsta u ispitivanom uzorku nije u potpunosti skladu s navodima koji se nalaze na deklaraciji samog proizvoda. Analizom difrakcijske slike nije dokazana prisutnost sorbitola, inulina, kukuruznog škroba, natrijeva saharina, natrijeva ciklamata ni riboflavina. Proizvođač je deklarirao magnezijev karbonat kao izvor magnezijevih iona u pripravku, a analiza ukazuje i na prisutnost silikatnog oblika magnezija.

## Magnezijev citrat 375

Od strane proizvođača je deklarirano da je spoj magnezijev citrat izvor magnezijevih iona unutar dodatka prehrani Magnezijev citrat 375. U sastavu ovog pripravka, prema deklariranim podacima, također se nalaze sljedeći sastojci: limunska kiselina, inulin, zatim natrijev bikarbonat kao regulator kiselosti, polietilen glikol kao tvar za sprječavanje zgrudnjavanja. Sukraloza je dodana kao sladilo, a riboflavini kao bojilo.



**Slika 37.** Difraktogram uzorka Magnezij citrat 375

**Tablica 7.** Minerološki sastav uzorka Magnezij citrat 375

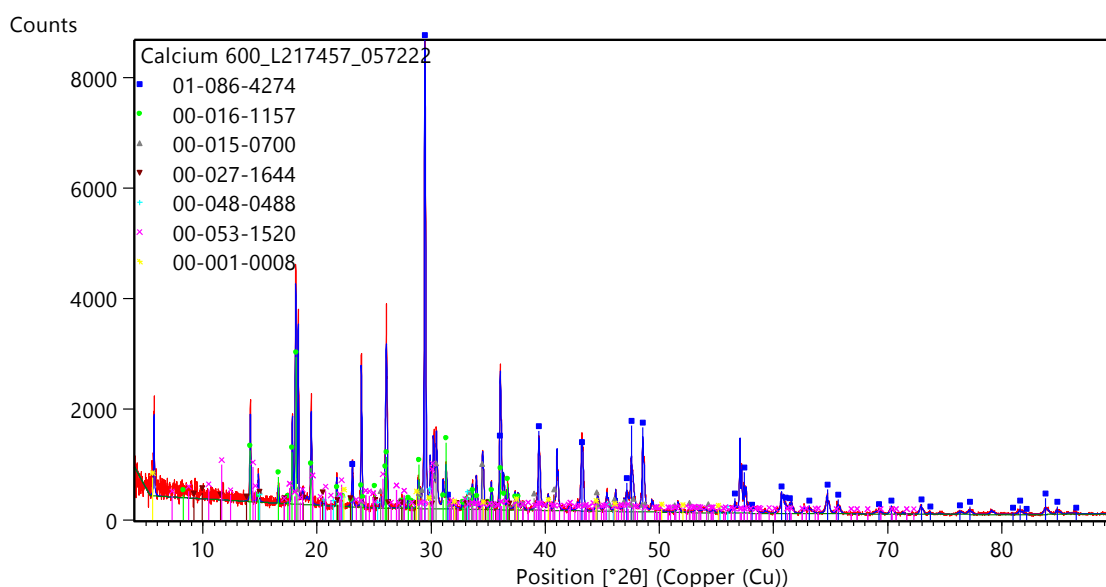
Referentni kod	Naziv spoja	Kemijska formula
00-015-0700	Natrijev bikarbonat	$\text{NaHCO}_3$
00-016-1157	Limunska kiselina	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$
00-001-0186	Magnezijev citrat tetradekahidrat	$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{Mg}_3\text{O}_{14} \cdot 14 \text{H}_2\text{O}$
00-005-0589	Riboflavin	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$

Iz analize difrakcijskih slika snimljenih na uzorku dokazana je prisutnost mineralnih vrsta prikazanih u tablici 7., a to su: magnezijev citrat tetradekahidrat (PDF 00-001-0186), limunska kiselina (PDF 00-016-1157), natrijev bikarbonat (PDF 00-015-0700) te riboflavin (PDF 00-005-0589). U uzorku nisu detektirane iduće mineralne vrste: inulin, polietilen glikol i sukraloza. Proizvođač je deklarirao magnezijev citrat kao

izvor magnezijevih iona u pripravku, a analiza ukazuje na prisutnost magnezijevog citrata tetradekahidrata.

### Calcium 600

Calcium 600 je dodatak prehrani koji se prema deklaraciji sastoji od kalcijeva karbonata i trikalcijeva fosfata kao izvora kalcijevih iona. Isti prema deklaraciji sadrži sljedeće sastojke: limunsku kiselinu, potom natrijev karbonat, natrijev bikarbonat te krumpirov škrob kao regulatore kiselosti, zatim sorbitol i inulin kao tvari za zadržavanje vlage. Natrijev ciklomat, maltodekstrin i natrijev saharin dodani su kao sladila, dok su se kao bojila upotrijebili riboflavini i Beetroot Red.



**Slika 38.** Difraktogram uzorka Calcium 600

**Tablica 8.** Minerološki sastav uzorka Calcium 600

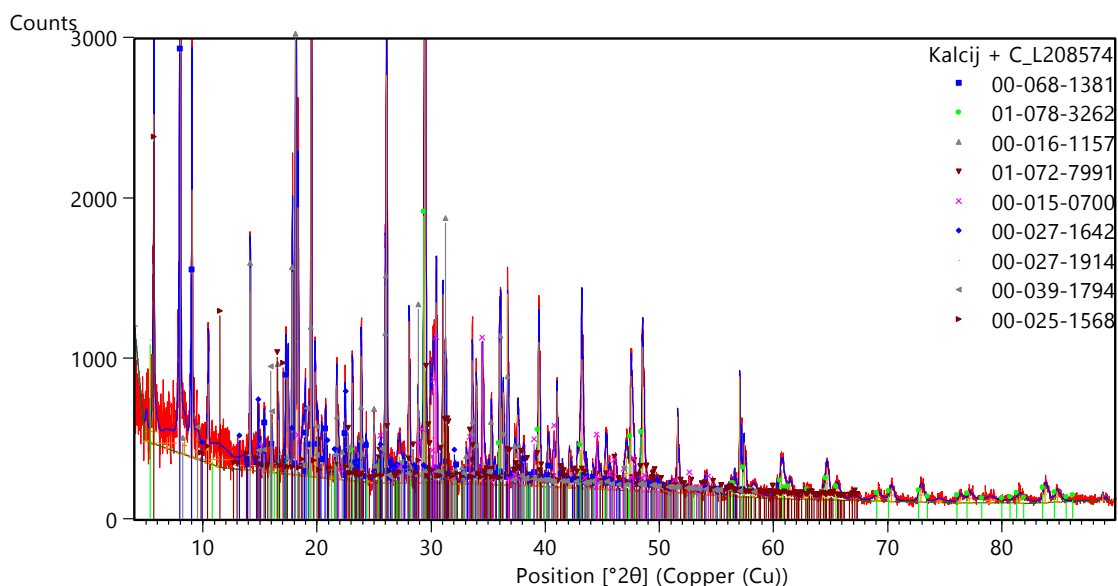
Referentni kod	Naziv spoja	Kemijska formula
01-086-4274	Kalcijev karbonat	$\text{CaCO}_3$
00-016-1157	Limunska kiselina	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$
00-015-0700	Natrijev bikarbonat	$\text{NaHCO}_3$
00-027-1644	Sorbitol	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$
00-048-0488	Trikalcijev fosfat	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
00-053-1520	Riboflavin	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$
00-001-0008	Kalcij citrat hidrat	$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{Ca}_3\text{O}_{14} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Rezultati minerološke analize uzorka navedeni su u tablici 8. i ukazuju na prisustvo kalcijeva karbonata (PDF 01-086- 4274), limunske kiselina (PDF 00-016-1157), natrijeva bikarbonata (PDF 00-015-0700), sorbitola (PDF 00-027-1644),

trikalcijeva fosfata (PDF 00-048-0488), riboflavina (PDF 00-053-1520) te kalcij citrat hidrata (PDF 00-001-0008) koji na deklaraciji nije evidentiran kao izvor kalcijevih iona u dodatku prehrani. Prilikom analize uzorka nije dokazana prisutnost natrijeva karbonata, krumpirovog škroba, sorbitola, inulina, maltodekstrina, natrijevog ciklamata, natrijevog saharina ni Beetroot Red-a.

## Kalcij + C

Kalcijev karbonat i kalcijev glukonat su glavni izvori kalcijevih iona u pripravku. Isti također sadrži: limunsku kiselinu, zatim natrijev bikarbonat, natrijev karbonat i krumpirov škrob kao tvari koje reguliraju kiselost, od tvari koje zadržavaju vlagu korišteni su inulin, sorbitol i L-askorbinska kiselina. Natrijev ciklamat i natrijev saharin su sladila koja su prisutna u pripravku.



**Slika 39.** Difraktogram uzorka Kalcij + C

**Tablica 9.** Minerološki sastav uzorka Kalcij + C

Referentni kod	Naziv spoja	Kemijska formula
00-068-1381	Kalcijev D-glukonat monohidrat	$C_{12}H_{22}CaO_{14} \cdot H_2O$
01-078-3262	Kalcijev karbonat	$Ca(CO_3)$
00-016-1157	Limunska kiselina	$C_6H_8O_7$
01-072-7991	Natrijev karbonat hidrat	$Na_2(CO_3)(H_2O)_{10}$
00-060-0319	Natrij kalcij aluminij silikat	$(Ca,Na)_{0.3}Al_2(Si,Al)_4O_{10}(OH)_2 \cdot xH_2O$

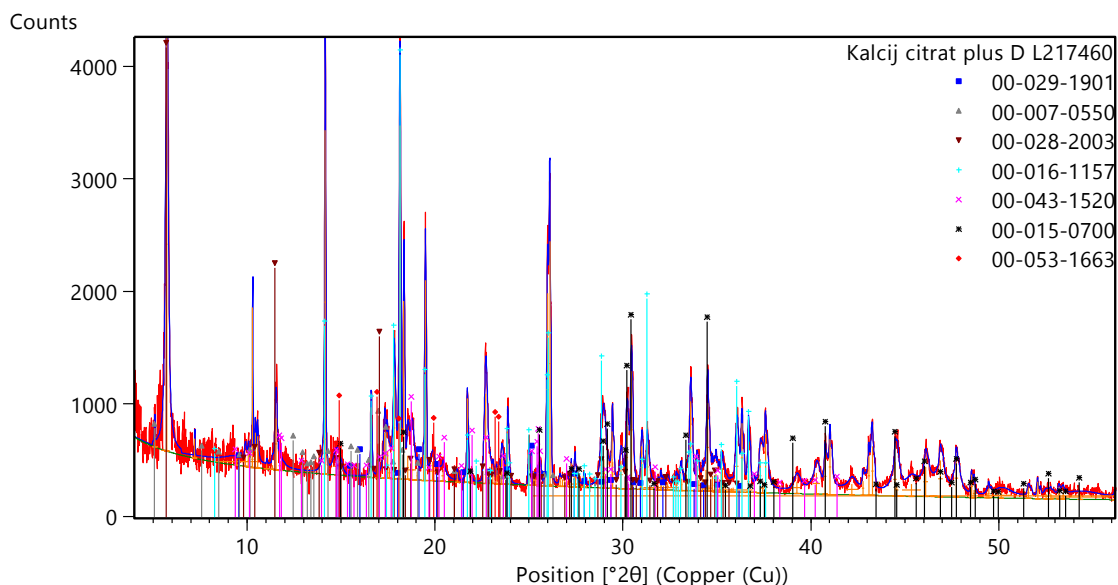
	hidroksid hidrat	
00-015-0700	Natrijev bikarbonat	$\text{NaHCO}_3$
00-027-1642	Sorbitol	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$
00-027-1914	Kalcijev ciklamat	$\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{CaN}_2\text{O}_6\text{S}_2$
00-039-1794	Saharin	$\text{C}_7\text{H}_5\text{NO}_3\text{S}$
00-025-1568	Kalcijev citrat tetrahidrat	$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{Ca}_3\text{O}_{14} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

---

Rezultati mineraloške analize provedene na uzorku prikazani su u tablici 9. Kalcijev karbonata (PDF 01-078-3262) i kalcijev D-glukonat monohidrat (PDF 00-068-1381) detektirani su kao izvori iona kalcija u uzorku. Na deklaraciji je istaknuta prisutnost kalcijeva glukonata, no analizom je utvrđen kalcijev D-glukonat monohidrat. Također se u uzorku nalaze kalcijev citrat tetrahidrat (PDF 00-025-1568) i natrij kalcij aluminij silikat hidroksid hidrat (PDF 00-060-0319) koji nisu deklarirani. Dokazana je prisutnost limunske kiseline (PDF 00-016-1157), natrijevog karbonat hidrata (PDF 01-072-7991) umjesto natrijevog karbonata, natrijevog bikarbonata (PDF 00-015-0700) i sorbitola (PDF 00-027-1642). Umjesto natrijevog ciklamata i natrijevog saharina u analizi je otkriven kalcijev ciklamat (PDF 00-027-1914) i običan saharin (PDF 00-039-1794). Krumpirov škrob, inulin i L-askorbinska kiselina nisu identificirani. Iz navedenih podataka zaključujemo da podaci navedeni na deklaraciji nisu u potpunosti u skladu s realnim sadržajem uzorka.

### **Kalcij citrat + D**

Podaci na deklaraciji ukazuju na to da je kalcijev citrat izvor kalcijevih iona u ovom dodatku prehrani. Osim spomenutog spoja, u sastav pripravka također ulaze: limunska kiselina, natrijev bikarbonat kao regulator kiselosti, potom sorbitol i inulin kao tvari za zadržavanje vlage, dok izvor sladila predstavljaju natrijev ciklamat, natrijev saharin, krumpirov škrob i kolekalciferol (vitamin D).



**Slika 40.** Difraktogram uzorka Kalcij citrat + D

**Tablica 10.** Minerološki sastav uzorka Kalcij citrat + D

Referentni kod	Naziv spoja	Kemijska formula
00-029-1901	Saharin	$C_7H_5NO_3S$
00-007-0550	Vitamin D <sub>2</sub>	$C_{28}H_{44}O$
00-028-2003	Kalcijev citrat hidrat	$Ca_3(C_6H_5O_7)_2 \cdot 4H_2O$
00-016-1157	Limunska kiselina	$C_6H_8O_7$
00-043-1520	$\gamma$ -sorbitol	$C_6H_{14}O_6$
00-015-0700	Natrijev bikarbonat	$NaHCO_3$
00-053-1663	Pšenični škrob	$(C_6H_{10}O_5)_n$

Rezultati mineraloške analize uzorka navedeni su u tablici 10. Sadržaj mineralnih vrsta ukazuje na prisustvo kalcijeva citrata hidrata (PDF 00-028-2003) umjesto kalcijeva citrata kao izvora kalcijevih iona. Također su prisutne sljedeće mineralne vrste: limunska kiselina (PDF 00-016-1157), natrijev bikarbonat (PDF 00-015-0700) i vitamin D (PDF 00-007-0550). Umjesto krumpirovog škroba identificiran je pšenični škrob (PDF 00-053-1663), umjesto natrijevog saharina prisutan je običan saharin (PDF 00-029-1901), a umjesto sorbitola je prisutan  $\gamma$ -sorbitol (PDF 00-043-1520). Inulin i natrijev ciklamat nisu identificirani. Analiza navedenog uzorka ukazuje na nepodudarnost informacija istaknutih na deklaraciji proizvoda sa stvarnim sastavom.



## 4. ZAKLJUČAK

Dodaci prehrani u posljednje vrijeme su sve češće korišteni jer omogućuju brz unos esencijalnih mikronutrijenata, ali obzirom na manjak mjera zakonske regulative poželjno je istražiti njihov sastav. Na temelju rezultata dobivenih istraživanjem koje je provedeno u svrhu ovog završnog rada može se donijeti zaključak da je rendgenska difrakcijska analiza jednostavna i brza metoda kojom se mogu identificirati mineralne vrste u odabranim dodacima prehrani. Rezultati XRD analize na praškastim uzorcima upućuju na uspješnu identifikaciju strukturno uređenih mineralnih i vitaminskih vrsta. Međutim nedostatak difrakcijskih tehnika je njihova nemogućnost identifikacije amorfne, strukturno ne uređene faze. Upravo zbog navedenog preporuča se korištenje i drugih tehnika kakarakterizacije poput kromatografskih i/ili spektroskopskih metoda u svrhu bolje karakterizacije materijala. Za razliku od ostalih metoda koje zahtijevaju predobradu uzorka, rendgenska difrakcijska analiza pruža mogućnost korištenja izvornih uzorka bez posebno zahtjevnih priprema i bez narušavanja unutarnje strukture materijala.

## 5. POPIS KRATICA

- XRD - rendgenska difrakcijska analiza  
- X-ray diffraction analysis
- ICDD - međunarodna baza podataka o kristalografskoj difrakciji  
- international crystallographic diffraction database
- RDA - preporučeni dnevni unos  
- recommended dietary allowance
- UL - gornja podnošljiva razina unosa  
- tolerable upper intake level
- FDA - američka agencija za hranu i lijekove  
- food and drug administration
- EFSA - europska agencija za sigurnost hrane  
- european food safety authority
- HPLC - tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti  
- high-performance liquid chromatography
- HPLC-MS - tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti spregnuta sa masenom spektrometrijom  
- high performance liquid chromatography-mass spectrometry
- GC - plinska kromatografija  
- gas chromatography
- GC-MS - plinska kromatografija s masenom spektrometrijom  
- gas chromatography-mass spectrometry

## 6. LITERATURA

1. Direktiva Europskog parlamenta i Vijeća o usklađivanju zakona država članica u odnosu na dodatke prehrani (2002/46/EZ). Službeni list Europske unije **46** (2002).
2. Pravilnik o dodacima prehrani (NN 46/2011). Narodne novine **46** (2011).
3. A. Kowalskaa, M. Bienieka, L. Manningb, Food supplements' non-conformity in europe – Poland: A case study, Trends in Food Sci Technol. **93** (2019) 262-270, doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.022>.
4. D. Vranešić Bender, S. Krstev, Makronutrijenti i mikronutrijenti u prehrani čovjeka, Medicus. **17** (2008) 19-25, <https://hrcak.srce.hr/37974>.
5. F. Mihelić, Kratak pregled vitamina, Farmaceutski glasnik. **10** (2) (1954) 45-52, <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:802856>.
6. URL: [Vitamini | Definicija hrane](#) (07.03.2023.)
7. URL: [Izvori | Definicija hrane](#) (07.03.2023.)
8. URL: [Izvori | Definicija hrane](#) (07.03.2023.)
9. R. D. Semba, The Discovery of the Vitamins, Int J for Vitam Nutr Res. **82** (5) (2012) 310-315, doi: <https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000124>.
10. D. Šupraha, Unos vitamina među studentima na Sveučilištu u Rijeci. Završni rad, Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet, 2020.
11. R. Costa-Pinto, D. Gantner, Macronutrients, minerals, vitamins and energy, Anaesth. **21** (3) (2020) 157-161, doi: <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2019.12.006>.
12. M. Zeece, Vitamins and minerals, Introduction to the Chemistry of Food. Academic Press (2020) 163-212, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809434-1.00005-0>.
13. E. H. Nickel, MINERALS | Definition and Classification, Encyclopedia of Geology (2005) 498–503, doi: <https://doi.org/10.1016/b0-12-369396-9/00259-8>.
14. URL: [Minerali | Definicija hrane](#) (13.03.2023.)
15. L. McDowell, Mineral Nutrition History: The Early Years, First Edition Design Publishing, Florida USA, 2017., str. 6-10
16. URL: [minerali | Hrvatska enciklopedija](#) (13.03.2023.)

17. URL: [kofaktor | Hrvatska enciklopedija](#) ( 18.03.2023.)
18. URL: [Nedostatak u organizmu | Definicija hrane](#) (20.03.2023.)
19. URL: [Nedostatak u organizmu | Definicija hrane](#) (20.03.2023.)
20. Pravilnik o informiranju potrošača o hrani (NN 8/2013). Narodne novine **8** (2013).
21. I. Hamrick, S. H. Counts, Vitamin and mineral supplements, *Prim. Care* **35** (4) (2008) 729-747, doi: <https://doi.org/10.1016/j.pop.2008.07.012>.
22. J. Fibigr, D. Šatínský, P. Solich, Current trends in the analysis and quality control of food supplements based on plant extracts, *Anal Chim Acta.* **1036** (2018) 1-15, doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.08.017>.
23. M. Begić, Metoda tekućinske kromatografije u sprezi sa spektrometrijom masa za identifikaciju i određivanje sadržaja sildenafilu u dodacima prehrani za erektilnu disfunkciju. Diplomski rad, Sveučilište u Rijeci, Odjel za biotehnologiju, 2018.
24. A. Jovanović, Određivanje kvalitete i sigurnosti dodataka prehrani separacijskim tehnikama. Završni rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju, 2021.
25. Pravilnik o tvarima koje se mogu dodavati hrani i koristiti u proizvodnji hrane te tvarima čije je korištenje u hrani zabranjeno ili ograničeno (NN 160/2013). Narodne novine **160** (2013).
26. URL: [How vitamin is made - ingredients of, making, history, used, processing, components, steps, product \(madehow.com\)](#) (25.03.2023.)
27. S. Survase, I. Bajaj, R. S. Singhal, Biotechnological Production of Vitamins, *Food Technol. Biotechnol.* **44** (3) (2006) 381-395, <https://hrcak.srce.hr/109918>.
28. URL:[http://sajamideja.fkit.hr/sajam%202017/Predavanja/F\\_Leva%C4%8Di%C4%87%20Ko%C5%A1%C4%87ak\\_I\\_Babec\\_ACG%20Lukaps.pdf](http://sajamideja.fkit.hr/sajam%202017/Predavanja/F_Leva%C4%8Di%C4%87%20Ko%C5%A1%C4%87ak_I_Babec_ACG%20Lukaps.pdf) (19.05.2023.)
29. URL: <https://www.pharmaguideline.com/2021/10/tablet-manufacturing-process-overview.html> (29.05.2023.)
30. M.A. Augustin, L. Sanguansri, Challenges in developing delivery systems for food additives, nutraceuticals and dietary supplements, *Encapsulation*

- Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals. (2012) 19-48, doi: <https://doi.org/10.1533/9780857095909.1.19>.
31. T. M. Ho, T. Truong, B. R. Bhandari, Methods to characterize the structure of food powders - a review, *Bosci Biotechnol Biochem.* 81 (4) (2017) 651-671, doi: <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1274643>.
  32. A. Martinko, Analitičke metode za određivanje vitamina. Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, 2019.
  33. T. Buhač, Nove metode u analitici dodataka prehrani za ublažavanje simptoma menopauze. Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, 2022.
  34. D. Džambić, Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti. Završni rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet elektrotehnike, računarstva i informacijskih tehnologija Osijek, 2019.
  35. A. Perković, Kvantitativno određivanje fenola iz uzoraka krvi i mokraće primjenom GC-MS metode. Diplomski rad, Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet, 2018.
  36. A. Bićanić, Termičko, rengenško i UV zračenje. Specijalistički diplomski stručni rad, Sveučilište u Karlovcu, Specijalistički diplomski stručni studij sigurnosti i zaštite, 2022.
  37. A. Čupurdija, Atomiški spektri. Završni rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za fiziku, 2014.
  38. I. Jendrzejewska, Application of X-Ray Powder Diffraction for Analysis of Selected Dietary Supplements Containing Magnesium and Calcium, *Front Chem.* 8 (2020) 1-12, doi: <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00672>. (09.04.2023.)
  39. V. D. Pavkov, G. Bakić, V. Maksimović i sur., Rendgenska difraktometrija praha XRPD, *Sinteza* (2019), doi: <https://doi.org/10.15308/Sinteza-2019-341-348>.
  40. N. Fišter, FTIR i XRD analiza sedimenata i tla na području Plitvičkih jezera. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Geotehnički fakultet, 2018.
  41. D. Šimčić, Istraživanje materijala pomoću raspršenja x-zraka. Završni rad, Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet, 2015.

42. URL: [https://www.researchgate.net/post/In\\_XRD\\_why\\_is\\_2-theta\\_used\\_instead\\_of\\_theta](https://www.researchgate.net/post/In_XRD_why_is_2-theta_used_instead_of_theta) (26.05.2023.)
43. S. Modric, Rendgenska difrakcija u polikristalu. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, 2018.
44. URL: <https://cms.eas.ualberta.ca/xrd/sample-preparation/> (14.05.2023.)
45. URL: [https://cdifx.univrennes1.fr/RECIPROCS/ANF2016\\_Frejus/pdf/RECIPROCS2016\\_M\\_Fransen\\_PANalytical.pdf](https://cdifx.univrennes1.fr/RECIPROCS/ANF2016_Frejus/pdf/RECIPROCS2016_M_Fransen_PANalytical.pdf) (14.05.2023.)
46. URL: <https://www.malvernpanalytical.com/en/products/category/x-ray-components/detectors/pixel3d> (19.05.2023.)
47. URL: <https://www.dietpharm.com/proizvodi/magnezij-375-sumece-tablete-a45/#> (20.05.2023.)
48. URL: <https://www.dietpharm.com/blog/svojstva-i-primjena-magnezijevog-citrata/> (20.05.2023.)
49. J. S. Linberg, M. M. Zobitz, J. R. Poindexter i sur., Magnesium bioavailability from magnesium citrate and magnesium oxide, J. Am. Coll. Nutr. 9 (1) (1990) 48-55, doi: <https://doi.org/doi:10.1080/07315724.1990.10720349>. (20.05.2023.)
50. URL: <https://www.dietpharm.com/en/products/calcium-600-effervescent-tablets/#> (20.05.2023.)
51. URL: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/poremecaji-prehrane-i-metabolizma/ravnoteza-soli/upravljanje-kalcijem> (20.05.2023.)
52. URL: [https://www.dietpharm.com/proizvodi/kalcijc-sumece-tablete/#modal\\_699\\_2](https://www.dietpharm.com/proizvodi/kalcijc-sumece-tablete/#modal_699_2) (23.05.2023.)
53. URL: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/poremecaji-prehrane-i-metabolizma/vitamini-i-minerali/visak-vitamina-c> (23.05.2023.)
54. URL: <https://www.dietpharm.com/proizvodi/kalcij-citratd-sumece-tablete/#> (23.05.2023.)
55. URL: <https://definicijahrane.hr/definicija/hranjive-tvari/minerali/kalcij-ca/izvori/> (23.05.2023.)

56. URL: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/poremecaji-prehrane-i-metabolizma/vitamini-i-minerali/visak-vitamina-d>  
(23.05.2023.)